Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Beitrag zu einem Enzymmuster der fetalen menschlichen Nebenniere

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrich Wörz
aus Göppingen

1968

9496

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0078

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Beitrag zu einem Enzymmuster der fetalen menschlichen Nebenniere

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrich Wörz
aus Göppingen

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Dozent Dr. med. P. König
2. Berichterstatter: Professor Dr. med. H. Roemer

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

Herrn Dozent Dr. König danke ich für die Überlassung des Themas und für die Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

INHALT

Seite

A. Übersicht über Literatur-Beiträge zur Morphologie und Funktion der fetalen Nebenniere 1

1. Entwicklung und Histologie 1

2. Endokrinologie der fetalen Nebenniere 3
a) Funktion der fetalen Nebenniere 3
b) Steuerung der fetalen Nebenniere 5

3. Bisherige histochemische Untersuchungen an der fetalen Nebenniere 7
a) Lipoide 7
b) PAS-positive Substanzen 9
c) Ascorbinsäure 9
d) Enzyme 10

B. Eigene enzymhistochemische Untersuchungen an der fetalen Nebenniere 15

1. Fragestellung und Aufgabe der Untersuchungen 15

2. Material und Methodik 15

3. Befunde 18
A. Oxidoreduktasen 18
B. Hydrolasen 22

C. Entwurf eines Enzym-Musters der menschlichen fetalen Nebenniere 32

D. Vergleich der eigenen Befunde zur Literatur 36

E. Korrelation der Enzym-Histotopochemie zur Funktion und Endokrinologie der fetalen Nebenniere 39

F. Zusammenfassung 45

G. Literaturverzeichnis 47

A. ÜBERSICHT ÜBER DIE LITERATUR-BEITRÄGE ZUR MORPHOLOGIE UND FUNKTION DER FETALEN NEBENNIERE

1. ENTWICKLUNG UND HISTOLOGIE

Die menschliche fetale Nebenniere unterliegt während ihrer Entwicklung morphologischen und funktionellen Veränderungen. Die Bedeutung dieses Wandels der fetalen Nebenniere bis zum ausdifferenzierten Organ des Erwachsenen ist noch weitgehend ungeklärt. Die Erkenntnisse über den Aufbau und die Struktur der fetalen Nebenniere stammen fast ausschließlich aus den letzten vierzig Jahren.

Nach POLITZER (1936) leiten sich die Zellen der Nebennierenrinde vom Coelomepithel ab. Dagegen fanden GOORMAGHTIGH (1921), WARING (1935) und UOTILA (1940) keine umschriebenen Epithelknospen in diesem Epithel (Interrenalepithel). GRUENWALD (1942, 1946) konnte im Gebiet der Nebennieren-Anlage keine Epithelstränge entdecken und hält eine rein mesenchymale Entwicklung der Rindenzellmasse, die auch noch einige Zeit nach der ersten Bildung anhält, für wahrscheinlicher. Bei Embryonen von 4,7 mm Scheitel-Steiß-Länge (SSL) beobachtete HETT (1925) keine deutliche Rindenanlage, jedoch eine ausgeprägte Epithelverdickung im Coelom zu beiden Seiten zwischen Mesenterialwurzel und Urniere an der dorsalen Leibeswand. SOULIE (1922) konnte bei Embryonen von 4 mm SSL (21. bis 25. Tag) keine sichere, dagegen bei solchen von 6 mm SSL (25. Tag) eine eindeutige Rindenanlage finden. Allgemein wird der Beginn der Nebennieren-Entwicklung in der 4. (CLARA 1940) bzw. 5. Schwangerschaftswoche (BROMAN 1927) angenommen. Nach VELICAN (1948) beginnt die erste Bildung zwischen dem 25. und 32. Schwangerschaftstag. Bei 8 mm SSL beschreibt BROMAN (1927) die Ablösung der Rindenanlage als einheitliches Gebilde vom Peritonealepithel. Bei 9 mm SSL sprossen die ersten Gefäße ein (ROSSI, PESCETTO und REALE 1951). Die Kapselbildung beginnt bei 15 mm SSL an der dorsalen Seite der Rindenanlage.

Während KEENE und HEWER (1927a) bei 12 mm SSL die erste Einwanderung von Markbildungselementen beobachten, findet HETT (1925) die ersten aus den Sympathikusganglien von medial und caudal in die Anlage eindringenden Zellen zu Beginn des 2. Embryonalmonats bei 15 und 16 mm SSL. Diese Einwanderung dauert nach HETT (1925) bis zum 200 mm-Stadium. BACHMAN (1954) hält ein Andauern bis in die letzten Schwangerschaftsmonate für möglich.

Die Sympathoblasten liegen anfangs in Form von Markballen in den ungeordneten Zellhaufen des Interrenalkörpers. Während sich ein Teil in sympathische Ganglienzellen umwandelt, beginnt sich die größte Masse der sympathischen Elemente bei 100 mm SSL in Phäochromoblasten und Phäochromocyten auszudifferenzieren. Die Markballen wandern allmählich nach innen und fließen bei Embryonen von 20 cm Länge zum einheitlichen Markorgan zusammen.

Frühzeitig wird eine immer deutlicher in Erscheinung tretende Zonendifferenzierung der Rindenanlage erkennbar. Eine dünne vielzellige, mitosenreiche Außenzone läßt sich von der breiteren netzförmigen Innenzone unterscheiden. Über den Zeitpunkt dieser Gliederung finden sich unterschiedliche Angaben. Während HETT (1925) die Differenzierung bei Embryonen von 18, 19 und 20 mm SSL beobachtet, verlegen ROTTER (1949) und FRAZAO (1954) diesen Vorgang in den Beginn des 3. Fetalmonats bei 50 bis 60 mm SSL. Nach KEENE und HEWER (1927a, b) und UOTILA (1940) setzt bei 12 mm SSL eine zweite Proliferation vom Coelomepithel ein, die die erste Rindenanlage umgibt und das Material der Außenzone darstellt. GRUENWALD (1946) nimmt dagegen eine Differenzierung neuer Rindenzellen aus dem umgebenden Mesenchym an. Die Zweischichtung der Nebennierenrinde in Innenzone (Cortex fetalis) und Außenzone (Cortex permanens) bleibt während der fetalen Entwicklung erhalten. Teile der Außenzone können durch Einstülpung von Rinde an der Eintrittsstelle der Nebennieren-Vene in die zentralen Abschnitte des Organs verlegt werden (Zona centralis, LANDAU 1915).

Die Außenzone besteht aus verschieden breiten Läppchen mit Gitterfasergerüst, die in Zellsäulen gegliedert sind (Zona fasciculo-arciformis, ROTTER 1949). Sie geht ohne scharfe Grenze in die Innenzone über, deren äußerer Teil ebenfalls aus Zellsäulen besteht (Zona fasciculata, ROTTER 1949), während die zentralen Abschnitte netzförmige Struktur zeigen (Zona reticularis, ROTTER 1949). Gegen Ende der Fetalzeit verdeutlicht sich die Säulenstruktur der Außenzone und die Zona fasciculata zerfällt in Zellballen, doch lassen sich mehr oder weniger starke Varianten im Aufbau sowohl der einzelnen Nebennierenrinde als auch der Organe verschiedener Fälle finden. Nach GRUENWALD (1946) ist eine exakte Gliederung in Zonen weder in den frühen Stadien, noch im Verlauf der späteren fetalen Entwicklung möglich. Die Unterscheidung von 5 verschiedenen Strukturtypen der Außenzone der Neugeborenen-Nebennierenrinde (KLOOS, STAEMMLER 1953) ist umstritten (DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Im Gegensatz zur Außenzone, die im Verlauf der Organentwicklung nur eine unbedeutende Verbreiterung erfährt, steigt der Umfang der Innenzone bis zur Geburt um das drei- bis vierfache an (DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Über das Wachstum des Organs gibt es verschiedene Hypothesen. Als erster hat sich GOTTSCHAU (1883) mit diesem Problem beschäftigt. Nach seiner Mei-

nung sind die Zellmitosen auf die äußere Rinde beschränkt. Von dort aus wandern die epitheloiden Zellen allmählich in die zentraleren Abschnitte der Rinde ein und gehen dort zugrunde. In diesen inneren Bereichen finden sich pyknotische Zellkerne, Anhäufungen von Lipofuscin und bizarr geformte Mitochondrien (HOERR 1931, BENNETT 1940, BAXTER 1946). Die Gültigkeit dieser Hypothese erfährt eine gewisse Einschränkung durch die Untersuchungen von BAXTER (1946) und van DORP und DEANE (1950), bei denen auch Mitosen in der Zona reticularis und der inneren Zona fasciculata gefunden wurden. Manche Autoren (BACHMANN 1954, SCHAUMKELL 1955) vermuten eine Umwandlung von Fibroblasten der inneren Kapselabschnitte in Rindenzellen. Einer anderen Hypothese zufolge bleiben die in den einzelnen Zonen gebildeten Zellen am Ort und ersetzen untergehendes Zellmaterial (SARASON 1943, VACCAREZZA 1945, GREEP und DEANE 1949). Von verschiedenen Autoren (GREEP und DEANE 1949, WILLIAMS 1953, SCHABERG 1957) wurde aber während der Embryogenese und der Regeneration eine Umwandlung von Zellen der äußersten Rindenschichten in Fasciculata-Zellen beobachtet, so daß die Vollgültigkeit dieser Theorie in Frage gestellt ist.

Die auf das Körpergewicht bezogene relativ größte Ausdehnung erreichen die fetalen Nebennieren am Ende der Embryonalentwicklung bei etwa 18 cm SSL (DHOM, ROSS, WIDOK 1958). Dann fallen diese Werte kontinuierlich ab. Dagegen nimmt das absolute Gewicht bis zum Schwangerschaftsende zu. Nach der Geburt kommt es zu einem deutlichen Gewichtsabfall durch die beginnende Involution der Innenzone. Dieser bis zum Ende des ersten Lebensjahres sich erstreckende Prozess führt zum Untergang der Innenzone durch Schwund des Parenchyms und Kollaps des Gewebes. Eine Umbauzone zwischen Involutionskern und Außenzone bleibt bis zum dritten Lebensmonat erhalten (DHOM 1965). Mit Beginn der Involution setzt eine starke Entfaltung des Marks und der Außenzone ein. Die Bildung der Zona glomerulosa beginnt im zweiten Lebenshalbjahr (ROTTER 1949) und ist etwa bis zum Ende des ersten Lebensjahres abgeschlossen.

2. ENDOKRINOLOGIE DER FETALEN NEBENNIERE

a) Funktion der fetalen Nebenniere

Über die Funktion der Erwachsenen-Nebenniere sind durch eine große Anzahl von Untersuchungen viele Einzelheiten bekannt. Der Mechanismus der Steroidbiosynthese und die funktionelle Bedeutung der Nebenniere im Gesamthaushalt des menschlichen Organismus sind weitgehend geklärt. Einzelne Probleme, wie das der Funktionsspezifität der Rindenzonen, sind bis heute noch

nicht vollständig gelöst. DEANE und GREEP (1946, 1947, 1949) ordnen den einzelnen Zonen spezifische Hormonfunktionen zu, während nach BENNETT (1940) die verschiedenen Zonen dem unterschiedlichen Alter und der entsprechenden Funktionstüchtigkeit der Rindenzellen entsprechen. TONUTTI (1942, 1951) nimmt eine je nach Beanspruchung des Organs sich verbreiternde (progressive Transformation) oder verschmälernde (regressive Transformation) Zona fasciculata auf Kosten der Zona glomerulosa und der Zona reticularis an.

Seit GOORMAGHTIGH und ELAUT (1925) wird allgemein die Anwesenheit von Fettstoffen in den Rindenzellen als Kriterium für die Funktionsaktivität des Organs herangezogen. Durch die Erforschung der Biosynthese von Rindenhormonen ist dieser Zusammenhang bekräftigt worden. Speicherung von Lipoiden deutet auf geringe Aktivität hin, während die Verarmung an Fetttropfen in den Rindenepithelien eine gesteigerte Synthese und Ausschwemmung von Steroidhormonen oder eine Erschöpfung des Organs erkennen läßt.

Die Funktion der fetalen Nebenniere bedarf gegenüber den Erkenntnissen über das erwachsene Organ noch weiterer Klärung. Das Nebennierengewebe zeigt schon vor der Geburt die charakteristischen Merkmale des sezernierenden Gewebes (MOOG 1959) mit Lipoidtropfen und dem Gehalt an Steroiden und deren Vorstufen. Bei Embryonen von 2 cm Länge finden sich vor allem in der Innenzone der menschlichen Nebenniere doppelbrechende Kristalle (ROTTER 1949, FRAZAO 1954, BENIRSCHKE et al. 1956). Die geringere Zellgröße deutet aber auf eine schwächere Aktivität als in der postnatalen Zeit hin. Gegen Ende der Schwangerschaft sind die Lipoide anscheinend verschwunden (BENIRSCHKE et al. 1956), treten aber während der postnatalen Involution der Innenzone wieder auf (STONER et al. 1953). BLOCH et al. (1956) finden zwischen der 9. und der 23. Schwangerschaftswoche in Organextrakten C-19-Steroide (Δ^4-Androsten-3, 17-dion, 11β-OH-Δ^4-Androsten-3, 17-dion). Von der 21. Woche an lassen sich C-21-Steroide isolieren. In allen Extrakten kann auch ein salzretinierender Faktor, bei dem es sich möglicherweise um Aldosteron handelt, gefunden werden. Durch Inkubationsversuche wurde die Fähigkeit des fetalen Nebennierengewebes, Steroide aufzubauen, gezeigt (LANMAN, SILVERMAN 1957; LANMAN, SOLOMON et al. 1957; VILLEE et al. 1959). Nach Inkubation von fetalem Nebennierengewebe mit Progesteron-4-C^{14} wurde Δ^4-Androsten-dion isoliert (SOLOMON et al. 1958). BLOCH und BENIRSCHKE (1959) inkubierten Nebennierenschnitte von Organen der 12. bis 22. Woche mit 1-C^{14}-Acetat und konnten sowohl in der Außenzone wie auch in der fetalen Zona reticularis Dehydroepiandrosteron, Δ^4-Androstendion, 11β-OH-Δ^4-Androstendion, 3β-OH-Δ^5-pregnen-20-on und Cortisol nachweisen. Auch der hohe Gehalt an 17-keto-Steroiden im fetalen Blut, der die mütterlichen Werte um ein Mehrfaches übertrifft (GARDNER, WALTON 1954; MIGEON 1956) spricht für eine aktive Sekretions-

leistung des fetalen Organs. Jedoch kann die hohe Steroidkonzentration auch auf einer Anhäufung von Placentahormonen im fetalen Kreislauf beruhen (DEANE 1962). Das Auffinden von Dehydroepiandrosteron im Harn Frühgeborener (EAGLE 1952), die hohe Ausscheidung von 17-keto-Steroiden in den ersten Lebenswochen (ZEISEL, PRESSLER 1953) und die Abnahme der 17-keto-Steroide im Plasma (GARDNER, WALTON 1954) und Harn, die mit der Involution der Innenzone (TÄHKÄ 1951) parallel verläuft, deuten auf eine sekretorische Funktion des fetalen Drüsengewebes hin.

Die isolierten Stoffe zeigen, daß im Vordergrund der Steroidproduktion die Bildung von Androgenen steht, die besonders in der Innenzone stattfinden dürfte. Dagegen wird der Ort der geringen Glokocorticoidbildung (HOFFMANN 1947; RUNNEBAUM, ZANDER 1962) in der schmalen Außenzone vermutet. Der Gesamtcorticoidgehalt in der fetalen Nebenniere steigt vom 5. Schwangerschaftsmonat bis zur Geburt von 20 γ auf etwa 380 γ an (STAEMMLER 1953).

Die bisherigen Untersuchungen weisen einheitlich auf eine Fähigkeit der fetalen Nebennierenrinde zur Eigenproduktion von Steroiden hin. Weitgehend ungeklärt ist aber noch die Bedeutung der fetalen Steroidsynthese für den Feten. Ein Einfluß auf die Genitalentwicklung findet aller Wahrscheinlichkeit nach nicht statt. BIERICH (1959) vermutet die physiologische Bedeutung im anabolen Wirkungsmechanismus der Androgene, dem gleichzeitig die katabole Wirkung der Glukocorticoide überlagert ist.

Über den Beginn der Funktion des fetalen Nebennierenmarks liegen nur wenige Untersuchungen vor. Die Ergebnisse über das erste Auftreten einer Aktivität in den Markzellen weisen zum Teil deutliche Differenzen auf. HAMMAR (1925) beobachtet bei 22 bis 23 mm SSL schon die ersten aktiven Markzellen. Von DANISCH (1926) wird der Beginn der endokrinen Tätigkeit bei 90 mm Länge angegeben. KEENE und HEWER (1925, 1927) glauben Adrenalin in der 12. Woche nachzuweisen. Nach DIETRICH und SIEGMUND (1926) tritt eine positive Phäochromie im 3. bis 4. Monat auf. Dagegen findet VELICAN (1948) eine Aktivität erst im 6. Schwangerschaftsmonat. Der Adrenalingehalt steigt während der Fetalzeit gleichmäßig an und fällt am Ende der Schwangerschaft stark ab (LELKES 1941).

b) Steuerung der fetalen Nebenniere

Der Regulationsmechanismus zwischen dem Hypophysenvorderlappen und der Nebennierenrinde des Erwachsenen ist durch viele Untersuchungen bekannt. Eine vermehrte Ausschüttung des Vorderlappenhormons ACTH wirkt stimulierend auf das spezifische Rindenparenchym und regt dieses zur Bildung und Sekretion von Steroiden an. Umgekehrt führt ein erhöhter Blut-Steroidspiegel

zur Bremsung der Hypophysenfunktion.

Beim Feten ist die Analyse von Faktoren, die kontrollierend und steuernd auf die fetale Nebenniere wirken, kompliziert durch die Tatsache, daß nicht nur die fetale Hypophyse, sondern auch Hormone der Placenta und der mütterlichen Hypophyse auf das Organ Einfluß haben können.

Daß die fetale Drüse einer übergeordneten Steuerung unterliegt, hat schon WEIGERT (1885) vermutet. Auf Grund von Untersuchungen an Früchten mit Hirnmißbildungen, die gleichzeitig eine Unterentwicklung der Nebennieren aufwiesen, hielt er eine Beeinflussung der Organentwicklung vom 5. Schwangerschaftsmonat an durch das Hypothalamus-Hypophysen-System des Feten für möglich. Bis zu diesem Zeitpunkt findet eine normale Entwicklung der Nebennierenrinde von Anencephalen statt (MEYER 1912; BENIRSCHKE 1956; NICHOLS 1956). LACOMME (1964) fand bei Fällen von Anencephalie und Acardie bis zum 5. Schwangerschaftsmonat normal entwickelte Organe, bei älteren Feten dagegen eine starke Reduktion der Innenzone. In Einklang mit diesen Funden stehen die Untersuchungen über den Beginn der Hypothalamusfunktion in der Fetalzeit (WAIDL, SENN 1960). Die verschiedenen Zelltypen des Hypophysenvorderlappens treten zwar schon zwischen 30 und 90 mm SSL in Erscheinung (ROMEIS 1940), das typische Gefüge der Adenohypophyse und die ersten Neurosekretgranula im Hypothalamus sind dagegen erst vom 5. Schwangerschaftsmonat (20 cm SSL) ansicher nachzuweisen. BENIRSCHKE und McKAY (1953) fanden von der 20. Schwangerschaftswoche an Sekretgranula in den hypothalamischen Kernen. Der übergeordnete Hypothalamus beginnt nach diesen Beschreibungen erst in der 2. Schwangerschaftshälfte zu arbeiten. Diese Daten deuten auf eine von der fetalen Hypophyse unabhängige Vergrößerung des Organs in der 1. Schwangerschaftshälfte hin. Die Kontrolle scheint durch das Choriongonadotropin der Placenta zu erfolgen, das in den ersten Monaten besonders hohe Werte aufweist (ROTTER 1949a; BENIRSCHKE 1956; GARDNER 1956; DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Vom 5. Schwangerschaftsmonat an übernimmt wahrscheinlich die fetale Hypophyse die Steuerung der Nebenniere. Als fetaler Faktor wird das luteotrope Hormon (LH) des Vorderlappens betrachtet, dessen Ausschüttung durch placentare Östrogene stimuliert wird (GARDNER, WALTON 1954; GARDNER 1956), deren Konzentration während der Schwangerschaft laufend zunimmt. Für eine fetale Hypophysenfunktion in dieser Zeit sprechen auch die ansteigenden Mengen von glykoproteidhaltigen Granula in den Mucoidzellen des Vorderlappens (PEARSE 1953; DHOM, FISCHER 1961). Gleichzeitig erklärt diese Hypothese der Steuerung die schnelle postnatale Involution der Innenzone nach Aufhören der placentaren Hormonzufuhr. Durch Östrogengabe konnte bei Neugeborenen das Ausscheidungsmuster der Harnsteroide mit den hohen Werten an 17-keto-

Steroiden erhalten werden, das vor der Geburt bestand (BIERICH et al. 1958).

Während die Innenzone unter dem Einfluß von LH an Umfang zunimmt, ist die Bremsung der fetalen ACTH-Produktion durch maternelle und placentare Steroide (DHOM, ROSS, WIDOK 1958) für die nur unbedeutende Vergrößerung der Außenzone in der Fetalzeit verantwortlich. Daß dem ACTH für die Entwicklung der fetalen Nebenniere keine zentrale Bedeutung beizumessen ist, geht aus verschiedenen Untersuchungen hervor (LANMAN 1953; BENIRSCHKE et al. 1956; DHOM, ROSS, WIDOK 1958). Außerdem kann die Zufuhr von ACTH die Involution der Innenzone nach der Geburt nicht aufhalten.

Nach der Geburt kommt es zu einem Abfall der Östrogenstimulation und somit zum Untergang der Innenzone. Durch den Wegfall der mütterlichen und placentaren Steroide erfährt die ACTH-Produktion der kindlichen Hypophyse eine Steigerung, die zur Vergrößerung und späteren Differenzierung der Außenzone führt.

3. BISHERIGE HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER FETALEN NEBENNIERE

Während man mit histochemischen Methoden über die in den Nebennierenzellen gespeicherten Stoffe bei den verschiedensten Säugetieren und beim erwachsenen Menschen vielfältige Untersuchungen angestellt hat, gewinnt man erst in den letzten Jahren Aufschlüsse über die Menge und die Verteilung der zur Aufrechterhaltung der Zellfunktion und zur spezifischen Leistung des Gewebes notwendigen Stoffe im fetalen Organ.

a) Lipoide

Ausführliche Untersuchungen sind bisher über die im fetalen Organ vorkommenden Fettstoffe, die im Zusammenhang mit der Steroidbiosynthese von Bedeutung sind, angestellt worden.

Es liegen immer Gemische verschiedener Fette wie Fettsäuren, Neutralfette, Cholesterinester und Phosphatide vor. Neben mikroskopisch maskierten Lipoiden (DEANE 1962), die an Zelleiweiß gebunden sind, findet man als charakteristisches Merkmal der Rindenzellen variables oder Stoffwechsel-Lipoid.

Die Lipoide der Rinde zeigen eine positive Reaktion auf Cholesterin (Cholesterin-Nachweis nach SCHULTZ), eine positive NAHD-Reaktion (ASHBEL und SELIGMAN) und VINES-Färbung, eine positive Perjodsäure-Schiff-Reak-

tion und doppelbrechende Kristalle im polarisierten Licht. Die positive FEYRTER'sche Färbung weist auf das Vorhandensein von Lipoproteiden und Glykolipoiden - vor allem in der Innenzone - hin (SCHOEN 1954; DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Bei 36 bis 44 mm SSL zeigen viele Zellen der Außenzone eine feintropfige Verfettung. Von da an ist das typische Bild der lipoidbeladenen Spongiocyten (TONUTTI 1953) zu finden. ROTTER (1949a) beobachtet bei einem 6 cm langen Embryo eine zunehmende feintropfige Verfettung, die zuerst in der an die Innenzone angrenzenden Schicht der Außenzone aufzutreten scheint, dort am stärksten ist und kapselwärts schwächer wird oder ganz verschwindet. Allgemein weist die Innenzone im 1. Schwangerschaftsdrittel einen stärkeren Lipoidgehalt auf als die Außenzone (DHOM, ROSS, WIDOK 1958; DHOM 1965). Der große Umfang des endoplasmatischen Retikulums in der Innenzone von Embryonen zwischen der 6. und 17. Schwangerschaftswoche spricht für eine aktive Leistung im Lipoidstoffwechsel (ROSS et al. 1958).

Im 2. Schwangerschaftsdrittel findet eine Umschichtung der Lipoidverteilung statt. Während die Innenzone entspeichert wird, nehmen die sudanophilen Substanzen in der Außenzone laufend zu (DHOM, ROSS, WIDOK 1958). Bei einem Feten von 20 cm Länge findet HETT (1925) viel Lipoide in der Außenzone, wenig im äußeren Abschnitt der Innenzone und im inneren Bereich wieder eine Zunahme der Fetttropfen. FRAZAO (1954) beobachtet nach dem 4. Schwangerschaftsmonat reichlich sudanophile Lipoide in der Außenzone, vor allem zur Innenzone hin, eine spärliche Ansammlung im fasciculären Bereich und eine deutliche Verfettung der Zona reticularis. Der Verlust an Speicherstoffen in der Innenzone könnte das Zeichen für eine beginnende Spezifizierung sein (Funktionszone, DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Im letzten Schwangerschaftsdrittel nimmt der Lipoidgehalt der Außenzone weiter zu, und die Innenzone wird zum größten Teil sudannegativ, so daß sie von dem sudanpositiven Band der Außenzone umschlossen wird (DHOM 1965). In der Innenzone sind nur noch einzelne Zellen mit randständigem Kern und großen Fetttropfen, sogenannte "Fettdegenerationszellen" (DHOM 1965) zu beobachten. Von McINTOSH (1960) wird bei Neugeborenen sudanophiles Material in der Außenzone und auch in Form von großen Tropfen gegen das Zentrum der Innenzone hin gefunden.

Nach der Geburt wird die Außenzone von Lipoiden entspeichert. Am stärksten ist davon die kapselnahe Schicht betroffen. Dies ist mit der postnatalen Belastung des Nebennierenrinden-Systems zu erklären (DHOM 1965). Vom 2. und 3. Lebensmonat an findet man aber regelmäßig eine kräftige Lipoidauffüllung (DHOM 1965). Die Innenzone, die nur noch im Zentrum verfettete Bereiche zeigt, beginnt mit der Involution rasch Fett einzulagern. Zwischen Involutionskern und Außenzone wird eine sudanophobe Zone gefunden. Im ersten Lebens-

halbjahr ist die Außenzone dicht mit Lipoidtropfen angefüllt und zeigt makroskopisch eine kräftige Gelbfärbung.

Im fetalen Nebennierenmark sind histochemisch keine Lipoide nachgewiesen worden.

b) PAS-positive Substanzen

Die Perjodatreaktion (PAS-Reaktion) erfaßt hauptsächlich Polysaccharide, Glykoproteide und Phosphatide. Eine diffuse PAS-Reaktivität der Nebenniere beruht nach GRAUMANN (1956) zum größten Teil auf in den Mitochondrien lokalisierten ungesättigten Lipoiden.

In 5 mm langen Embryonen zeigt das Coelomepithel keinen Gehalt an Glykogen und Glykoproteid. Bei Embryonen von 6 und 7 mm Länge findet man an der Stelle der Nebennierendifferenzierung eine positive Reaktion von Glykoproteiden (McKAY, ADAMS, HERTIG, DANZIGER 1955, 1956). DHOM, ROSS und WIDOK (1958) beobachteten in den Nebennieren eines 1 cm langen Embryos reichlich perjodat-reaktives Material. Bei einem 4 Monate alten Feten zeigte sich in einigen Zellen der Cortex fetalis eine Anfärbung des GOLGI-Apparates (FRAZAO 1952). In der atrophischen Nebennierenrinde eines Anencephalus wurde eine perjodatpositive Reaktion beobachtet (FRAZAO 1954). LIVINI (1920) und SUNDBERG (1924) fanden verbreitet Glykogen in den embryonalen Rindenepithelien. Bei normalen Neugeborenen weisen die inneren Rindenbezirke eine PAS-positive Reaktion auf (BACHMANN 1954). Die Verteilung der perjodat-reaktiven Elemente entspricht dem bei den Sudanfärbungen gefundenen Bild. Trotzdem scheinen die Substanzen nicht identisch zu sein, da die PAS-Färbung eine schwächere Reaktion als die Fettfärbung ergibt (DHOM, ROSS, WIDOK 1958).

Die Kapsel der Nebenniere von Neugeborenen ist perjodat-reaktiv (ROSSI et al. 1954). GRAUMANN (1956) identifiziert nach Untersuchungen am Goldhamster die perjodatpositiven Stoffe der Organkapsel mit Kitt- und Grundsubstanzen und in Fibroblasten gelegenem Glykogen. Bindegewebszellen und Kapillarendothelien enthalten Polysaccharide (FRAZAO 1954).

In den Sympathogonien des Nebennierenmarks fand SUNDBERG (1924) PAS-positive Substanzen.

c) Ascorbinsäure

GIROUD und MARTINET (1941) fanden Vitamin C in der Innenzone der fetalen Nebenniere. Den größten Gehalt an Ascorbinsäure scheint während der Fe-

talzeit die Innenzone zu besitzen; die Konzentration in der Außenzone ist stärker als im fetalen Mark (BOURNE 1933). Nach DHOM, ROSS und WIDOK (1958) nimmt der Vitamin-C-Gehalt zu den inneren Rindenbereichen hin zu und entspricht in der Verteilung der von STENZ (1956) beschriebenen Tannophilie der Rindenzellen. Die steroidproduzierenden Organe zeigen allgemein eine hohe Konzentration an Ascorbinsäure (GIROUD, LEBLOND 1935).

d) Enzyme

Durch die Entwicklung und Verfeinerung spezifischer Methoden hat die Histochemie der Enzyme in den vergangenen zwanzig Jahren bedeutende Fortschritte erfahren. Die Untersuchungen an fetalen Nebennieren haben sich bisher hauptsächlich auf Laboratoriumstiere beschränkt, so daß über die menschliche fetale Nebenniere nur wenige Ergebnisse vorliegen.

Oxidoreduktasen

1.) Succinodehydrogenase

In der 9. Schwangerschaftswoche konnte keine Aktivität der Succinodehydrogenase beobachtet werden. Von der 11. Woche ab zeigte sich jedoch eine Anfärbung der Außenzone und der Innenzone (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961). ROSSI, PESCETTO und REALE (1957) fanden im 3. Monat (60 mm SSL) eine fast gleich starke Anfärbung in beiden Teilen der fetalen Nebenniere. Im 5. Monat zeigten sich quantitative Unterschiede. Von der stark angefärbten Außenzone war nach innen zu eine Abnahme der Aktivität festzustellen. Eine rötliche Färbung der Außenzone wurde auf eine Lösung des Diformazan-Farbstoffes in dem lipoidhaltigen Gewebe zurückgeführt (ROSSI, PESCETTO, REALE 1957).

2.) NAD-Diaphorase

Bei Untersuchungen an der Maus (ALLEN 1959, 1960a) ergab sich sofort nach der Geburt eine nur schwache Aktivität der NAD-Diaphorase im Cytoplasma aller Rindenzellen, während das Bindegewebe keine Anfärbung zeigte. In den folgenden Tagen wurde eine allmähliche Zunahme der Enzymaktivität beobachtet.

In der Anlage der menschlichen Nebenniere wurde bei einem 40 mm langen Feten in den Zellen des subkapsulären Blastems eine geringe und im Zentrum eine stärkere Aktivität der NAD-Diaphorase gefunden (JIRASEK, LOJDA 1964). Von der 9. Woche bis zum 5. Monat wurde das Enzym sowohl in der Außenzone als auch in der Innenzone nachgewiesen (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961). Diese Befunde stimmen mit den weiteren Untersuchungen von JIRASEK und LOJDA (1964) überein.

3.) Lactat-Dehydrogenase

Untersuchungen von JIRASEK und LOJDA (1964) ergaben bei einem 40 mm langen menschlichen Embryo eine geringe Enzymaktivität im Bereich des subkapsulären Blastems und eine stärkere Anfärbung im Zentrum der Anlage. Dieselbe Intensität und Verteilung wurde auch in späteren Stadien gefunden. Befunde liegen bis zu einem Alter von 180 Tagen (320 mm) vor.

4.) 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase

Die Nebennieren der Maus zeigen am Tag der Geburt niedrige Werte in der Außenzone und in der Zona fasciculata. In der X-Zone männlicher Tiere läßt sich keine Aktivität erfassen, während bei weiblichen Tieren in den inneren Partien am 16. Lebenstag eine mäßige Reaktion zu beobachten ist. In den ersten Wochen nach der Geburt findet eine Zunahme der Aktivität statt (ALLEN 1960b).

In der Außen- und Innenzone von menschlichen Feten der 11. bis 20. Schwangerschaftswoche wurde das Enzym nachgewiesen. Dagegen wurde in der 9. Woche keine Aktivität der 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase gefunden (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961).

5.) ANDERSEN (1965) beschreibt eine Sulfhydryl-"nothing-Dehydrogenase", die in Nebennieren bei Embryonen von 30 bis 185 mm Länge nachgewiesen wurde.

Andere Oxidoreduktasen wie die NADP-Diaphorase, die Iso-Citronensäure-Dehydrogenase und die 17-β-Östradiol-Dehydrogenase sind bisher in fetalen Nebennieren nicht untersucht worden.

Hydrolasen

1.) Ali-Esterase

Studien an der Nebennieren-Anlage der Maus vom 11. bis zum 16. Schwangerschaftstag erbrachten in dieser Zeit geringe Mengen an unspezifischer Esterase (REALE 1955). Vom 16. Tag bis zur Geburt behält das Enzym etwa dieselben Werte und erfährt in der Neugeborenenperiode eine Zunahme (ALLEN 1958). ZAWISTOWSKI (1960) konnte in der Nebenniere der Ratte eine nach verwendetem Substrat verschieden lokalisierte Enzymaktivität nachweisen. Bei Rattenembryonen wurde vom ersten Auftreten der Rindenanlage an eine unspezifische Esteraseaktivität gefunden, deren Intensität gegen Ende der Fetalzeit stark zunahm (DREWS 1964/1965).

Untersuchungen des menschlichen Coelomepithels am Ort der Nebennieren-

differenzierung ergaben weder bei 5 mm langen noch bei 6 und 7 mm langen Embryonen eine Aktivität der unspezifischen Esterase (McKAY, ADAMS, HERTIG, DANZIGER 1955, 1956). Menschliche Früchte von 15 bis 65 mm Länge zeigen im Cytoplasma der Rindenzellen eine schwache Reaktion des Enzyms. Während auch die Nerven sich positiv anfärben, lassen in dieser Zeit die chromaffinen Zellen des Marks keine Aktivität erkennen (VACEK 1960). JIRASEK und LOJDA (1964) beobachteten das erste Auftreten einer Enzymaktivität bei einem 40 mm langen, etwa 47 Tage alten Embryo. In der 9. Schwangerschaftswoche läßt sich das Enzym in der Außenzone und etwas kräftiger in der Innenzone nachweisen (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961). Dagegen konnten ROSSI, PESCETTO und REALE (1957) bei einem ungefähr 10 Wochen alten Embryo keine Enzymaktivität feststellen. Zwischen der 11. und der 20. Woche ist die unspezifische Esterase in der Innen- und Außenzone der Rindenanlage zu finden (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961). Bis zur 28. Woche soll die Aktivität wieder abnehmen (JIRASEK, LOJDA 1964).

2.) Cholinesterasen

Embryonen der Ratte zeigen eine starke Aktivität der Cholinesterase während des undifferenzierten Stadiums des Nebennierenmarks. Diese beginnt sich vom 15. Tag an zurückzubilden und bleibt nur im Randbereich der Markzellballen von unveränderter Stärke. Eine positive Reaktion ist auch in der Nebennierenkapsel zu finden. Etwa vom 15. Tag an läßt sich eine schwache Aktivität der Acetylcholinesterase in der Markanlage differenzieren (DREWS 1964/65).

Über das Vorkommen der Enzyme in den Nebennieren menschlicher Früchte liegen bisher keine Untersuchungen vor.

3.) Alkalische Phosphatase

MOOG (1944, 1947) fand eine ziemlich hohe Aktivität des Enzyms bei 4 Tage alten Hühnerembryonen, die jedoch am 6. Tag merklich abgenommen hatte und am 8. Tag auf die Hälfte reduziert war. Rattenembryonen von 11 bis 32 mm Länge zeigten vor allem in den äußersten Zellschichten der Rinde eine Anfärbung, die auch die Kapillarendothelien betrifft (ZAWISTOWSKI 1960).

Im Coelomepithel wurde am Ort der Nebennierendifferenzierung bei 5 bis 7 mm langen menschlichen Embryonen eine Aktivität der alkalischen Phosphatase beobachtet (McKAY, ADAMS, HERTIG, DANZIGER 1955, 1956). Das interrenale Gewebe eines 9 mm langen menschlichen Embryos zeigte eine stark positive Reaktion (ROSSI, PESCETTO, REALE 1951). Embryonen von 15 und 20 mm Länge bieten eine nur sehr schwache Reaktion in den Rindenzellen und keine Färbung der chromaffinen Zellen (VACEK 1960). Bei 23 mm SSL findet sich eine starke Aktivität der epithelialen Zellen und des Stromas. Die äußeren

Schichten färben sich stärker an als die inneren Zellansammlungen. Die Kapsel zeigt eine deutlich positive Reaktion (ROSSI, PESCETTO, REALE 1951). VACEK (1960) beobachtete zwischen 30 und 65 mm Länge eine schwache Anfärbung im Cytoplasma der Rindenzellen, während in den chromaffinen Zellen keine Aktivität zu erfassen war. Am Ende des 3. Monats (70 mm SSL) hat der Phosphatasegehalt der mehr nach innen gelegenen Zellen zugenommen, während in der Peripherie eine Aktivitätsminderung beobachtet wird. Die Markzellen färben sich schwach an. Im 4. Monat läßt die Kapsel keine Aktivität mehr erkennen (ROSSI, PESCETTO, REALE 1951). McINTOSH (1960) findet von der 14. bis zur 16. Woche eine kräftige Anfärbung der Innenzone und eine schwache Reaktion in der Außenzone. Bis zum 9. Monat nimmt die Phosphataseaktivität in allen Zonen ab (ROSSI, PESCETTO, REALE 1951). Dagegen fanden andere Autoren (DAWSON, PRYSE-DAVIES, SNAPE 1961) im 6. Schwangerschaftsmonat eine auf die Außenzone beschränkte Enzymaktivität. JIRASEK, LOJDA und JIRASEK (1960) sowie VACEK (1960) lokalisieren das Enzym in der Golgizone der Rindenzellen und in den Zellmembranen. Bei der Geburt wurde eine schwache Aktivität des Enzyms gefunden, die danach bis zum Ende des 1. Lebensmonats zunahm (VERNE, HEBERT 1958).

4.) Saure Phosphatase

Die Nebennierenanlage vom Huhn enthält zu Beginn der Entwicklung nur geringe Enzymmengen, die am 8. Tag der Embryogenese auf doppelte Werte ansteigen (MOOG 1944).

Im Coelomepithel menschlicher Feten findet sich in der Gegend der späteren Nebennierenanlage bei 5 mm Länge keine Aktivität, während bei 6 und 7 mm Länge eine positive Reaktion zu bemerken ist (McKAY, ADAMS, HERTIG, DANZIGER 1955, 1956). Bei 9 mm SSL läßt die Nebennierenanlage saure Phosphatase erkennen, wobei jedoch die Identifikation des Gewebes nicht eindeutig gelang (ROSSI, PESCETTO, REALE 1953). JIRASEK und LOJDA (1964) fanden bei einem etwa 39 Tage alten Embryo in den paranukleären Zonen der Nebennierenblastemzellen vereinzelt saure Phosphatase. Die Organe bei 36 und 70 mm SSL zeigen eine Anfärbung - vor allem der Zellkerne - in der Außenzone und eine stärkere Aktivität im Innern der Anlage (ROSSI, PESCETTO, REALE 1953). Zu ähnlichen Ergebnissen sind andere Autoren gelangt (JIRASEK, LOJDA, JIRASEK 1960). DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) fanden von der 9. bis zur 20. Woche eine deutliche Aktivität in beiden Zonen der Rindenanlage.

5.) 5′- Nucleotidase

In den Zellen der Nebennierenrinde und im Gefäßendothel wurde eine positive Reaktion gefunden (JIRASEK, LOJDA, JIRASEK 1960).

6.) β - Glucuronidase

Menschliche fetale Nebennieren zeigen zwischen 15 und 35 mm Länge eine positive Reaktion in den Rindenzellen, die bis zum Stadium von 65 mm Länge an Intensität zunimmt. Die Endothelien von Sinusoiden und Kapillaren und die Muskelzellen der Arteriolen werden ebenfalls angefärbt. In den chromaffinen Zellen läßt sich in diesem Zeitabschnitt keine Glucuronidase-Aktivität erfassen (VACEK 1960).

Über das Vorkommen anderer Hydrolasen - speziell der Aryl-Sulfatase, der Leucin-Aminopeptidase, der ATPase und der Phosphoamidase, sowie der β-D-Galaktosidase sind bisher keine Untersuchungen in der Literatur mitgeteilt.

B. EIGENE ENZYMHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER FETALEN NEBENNIERE

1. FRAGESTELLUNG UND AUFGABE DER UNTERSUCHUNGEN

Während Morphologie, Struktur und Funktion der einzelnen Abschnitte der ausgereiften Nebenniere weitgehend abgeklärt sind, stellt die fetale Nebenniere, wie aus den früheren Abschnitten hervorgeht, ein in vieler Hinsicht noch unerschlossenes Organ dar. Auf den Gebieten der Morphogenese und der Histologie sind in den letzten Jahrzehnten bedeutsame Fortschritte gemacht worden. Dagegen beginnt man erst seit kurzer Zeit Einblicke in die Entwicklung der Organfunktion zu erhalten. Dabei gewinnen die in den einzelnen Gewebsstrukturen vorhandenen Enzyme zunehmend an Bedeutung. Als Katalysatoren beeinflussen sie den geordneten Ablauf von Stoffwechselvorgängen. Die Aktivität bestimmter Enzyme läßt auf spezifische Funktionen an den betreffenden Orten schließen. So deutet die Anwesenheit von Steroid-Dehydrogenasen auf eine aktive Leistung in der Steroidproduktion hin. Umgekehrt kann man aus dem Nachweis von Enzymen in bestimmten Gewebsformationen Aufschlüsse über deren Bedeutung im Stoffwechsel gewinnen. Dies ist von großem Interesse, da der Wirkungsmechanismus vieler Fermente bisher nur unzureichend geklärt ist.

In der vorliegenden Arbeit werden fetale Nebennieren verschiedener Entwicklungsstadien mit histochemischen Methoden auf die Lokalisation mehrerer Enzyme untersucht. Damit wird ein Beitrag zu einem Enzymmuster der menschlichen fetalen Nebenniere geleistet. Gleichzeitig werden durch die Lokalisation der Enzymaktivitäten die bisherigen Ergebnisse über die allgemeine und spezielle Funktion der einzelnen Gewebsformationen im fetalen Organ vervollständigt, so daß über die Enzymologie ein Einblick in die Endokrinologie der fetalen Nebenniere gewonnen wird.

2. MATERIAL UND METHODIK

Für die Untersuchungen wurden die Nebennieren von zwanzig Embryonen, Feten und vergleichsweise von verstorbenen Früh- und Neugeborenen aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen verwendet. Die folgende Übersicht ergibt

das Schwangerschaftsalter, die Größe und die Todesursache:

1) 10 Wochen alter männlicher Embryo von 5 cm Scheitel-Fuß-Länge (SFL). (Abortus incompletus).
2) 10 Wochen alter männlicher Embryo von 6 cm SFL. (Abdominale Totalextirpation nach Ablatio eines Mamma-Carcinoms wegen Rezidivgefahr).
3) 13 Wochen alter männlicher Fet von 15 cm SFL. (Abortus incompletus).
4) 16 Wochen alter männlicher Fet von 22 cm SFL. (Abortus incompletus).
5) 20 Wochen alter männlicher Fet von 24 cm SFL. (Spontanfrühgeburt, Rh-Unverträglichkeit).
6) 20 Wochen alter männlicher Fet von 24 cm SFL. (Spontanfrühgeburt, Rh-Unverträglichkeit).
7) 21 Wochen alter männlicher Fet von 25 cm SFL. (Abortus incompletus).
8) 21 Wochen alter männlicher Fet von 26 cm SFL. (Spontanabort, Toxoplasmose).
9) 23 Wochen alter männlicher Fet von 17 cm SFL. (Abortus incompletus).
10) 23 Wochen alter weiblicher Fet von 26 cm SFL. (Spontanabort, Präeklampsie).
11) 24 Wochen alte männliche Frühgeburt von 32 cm SFL. (Spontanfrühgeburt, Asphyxie, Tod post partum).
12) 24 Wochen alte männliche Frühgeburt von 37 cm SFL. (Spontanfrühgeburt, zentrales Versagen des Atemzentrums).
13) 25 Wochen alte weibliche Frühgeburt von 35 cm SFL. (Spontanfrühgeburt, zentrales Versagen).
14) 28 Wochen alter männlicher Fet von 33 cm SFL. (Spontanabort).
15) 28 Wochen alte weibliche Frühgeburt von 42 cm SFL. (zentrales Versagen).
16) 31 Wochen alte männliche Frühgeburt von 39 cm SFL. (Asphyxie, zentrales Versagen).
17) 32 Wochen alte weibliche Frühgeburt von 39 cm SFL. (Asphyxie, cerebrale Unreife).
18) 32 Wochen alte weibliche Frühtotgeburt von 38 cm SFL. (Rh-Unverträglichkeit).
19) 40 Wochen alte weibliche Lebendgeburt von 53 cm SFL. (Asphyxie).

20) 40 Wochen alte weibliche Totgeburt von 50 cm SFL. (Nabelschnurprolaps, Asphyxie).

Die Nebennieren wurden durch einen paravertebralen Schnitt oder durch Laparotomie entnommen.

Das Untersuchungsmaterial wurde bis zur Bearbeitung bei -20° C im Kryostaten aufbewahrt. Zur histochemischen Untersuchung wurden Kryostatschnitte von 12 bis 16 µ Dicke angefertigt, die ohne vorhergehende Fixierung der jeweiligen Behandlung unterzogen wurden. Da alle bisher untersuchten Enzyme, in erster Linie die Oxidoreduktasen, aber auch Phosphatasen und Esterasen durch jede Art der Fixation eine Aktivitätsminderung erfahren (SELIGMAN et al. 1951), ergeben Untersuchungen am nicht vorbehandelten Gewebe genauere Resultate über die Reaktionsstärke eines vorhandenen Enzyms. Dabei sind gewisse Nachteile, vor allem der Diffusion der unlöslichen Endprodukte der Reaktion, nicht zu vermeiden.

An den Gewebsschnitten wurden histochemische Untersuchungen über 17 Enzyme vorgenommen:

A. Oxidoreduktasen
1. Succinodehydrogenase
2. NAD- und NADP-Diaphorase
3. Lactat-Dehydrogenase
4. Isocitronensäure-Dehydrogenase
5. 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase
6. 17-β-Östradiol-Dehydrogenase

B. Hydrolasen
1. Ali-Esterase
2. Cholin-Esterase und
3. Acetylcholin-Esterase
4. Aryl-Sulfatase
5. Unspezifische alkalische Phosphatase
6. Unspezifische saure Phosphatase
7. Leucin-Aminopeptidase
8. Adenosintriphosphatase
9. Phosphoamidase
10. β-Glucuronidase
11. β-D-Galaktosidase

Die für die verschiedenen Enzyme verwendeten histochemischen Verfahren werden bei der Beschreibung der Befunde angegeben.

Die morphologische Beurteilung erfolgte am Hämatoxylin-Eosin - und mit Kernechtrot gefärbten Schnittpräparat. Zur Darstellung der Fette in der fetalen Nebenniere wurden PAS-, Sudan III-, Sudanschwarz- und Scharlachrotfärbungen angefertigt.

3. BEFUNDE

A. Oxidoreduktasen

1. Succinodehydrogenase

Methodik:

Zum histochemischen Nachweis des Enzyms wurde die Nitro-BT-Methode nach NACHLASS, SELIGMAN et al. (1957) benützt.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Kapsel zeigt in den früheren wie in den späteren Entwicklungsstadien eine unterschiedslos schwache Reaktion.

Im Stroma von Rinde und Mark liegt in allen Fällen eine schwache Reaktion vor. Nur in den Wänden der größeren Gefäße ist eine stärkere Formazan-Ablagerung zu finden, die sich bis in das umgebende Stroma erstreckt.

b) Außenzone:

Das Parenchym der Außenzone zeigt in der 10. Woche eine mäßig starke Reaktion, die aber zunimmt und in der 16. Woche sehr intensiv ist. Bis zur 40. Woche behalten die Zellen eine starke Färbung. Direkt unter der Kapsel zeigt der äußerste kerndichtere Bereich eine gegenüber den weiter innen gelegenen Bezirken kräftigere Reaktion. Die Farbstoffgranula sind fast ausschließlich im Cytoplasma lokalisiert.

c) Innenzone:

In den Zellen der Innenzone findet sich in der 10. Woche eine deutliche Färbung, die in der 16. Woche die Intensität der Außenzone erreicht und in allen Bereichen die gleiche Stärke hat. Bis zum Ende der Fetalzeit tritt keine Veränderung in der Reaktion mehr auf.

d) Mark:

Das Markgewebe zeigt in allen Phasen eine deutliche Reaktion von gleichbleibender Intensität, die aber wesentlich schwächer als die der Rinde ist.

2. NAD- und NADP-Diaphorase

Methodik:

Zum histochemischen Nachweis der Enzyme wurde die Methode von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) verwendet. Diese Reaktion erfaßt die Elektronen- und Wasserstoffübertragung von $NADH_2$ bzw. $NADPH_2$ auf die Diaphorasen, die dann Tetrazoliumsalz zu unlöslichem Formazan reduzieren.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Zwischen NAD- und NADP-Diaphorase findet sich kein Unterschied in der Lokalisation. Die Intensität der Reaktion der NAD-Diaphorase ist allgemein etwas stärker als die der NADP-Diaphorase.

Die Kapsel zeigt eine in allen untersuchten Schnitten unverändert gleichmäßige schwache Reaktion. Das Bindegewebe von Rinde und Mark bietet denselben Aspekt. Die Gefäßwände und ihre Umgebung fallen durch eine stärkere Ablagerung von Formazan auf.

b) Außenzone:

Das Parenchym der Außenzone weist in der 10. Woche eine starke Fällung auf, die in der 13. Woche noch zugenommen hat und von da an bis zur 40. Woche die gleiche Intensität behält. Direkt unter der Kapsel findet sich bei beiden Diaphorasen ein schmaler Streifen, der sich durch eine stärkere Reaktion von der Umgebung abhebt. Die Farbstoffgranula sind vorwiegend im Cytoplasma lokalisiert.

c) Innenzone:

In der Innenzone zeigen die Rindenzellen nach einer verminderten Reaktion in der 10. Woche einen starken Formazan-Niederschlag in der 13. Woche, der bis zur 40. Woche unverändert gleichbleibt. Die Zellkerne sind ausgespart.

d) Mark:

Das Gewebe des Marks reagiert in allen untersuchten Entwicklungsstadien gleich stark. Der blaue Farbstoffniederschlag hat aber geringere Intensität als in den Rindenzonen.

3. Lactat-Dehydrogenase

Methodik:

Der histochemische Nachweis wurde nach der Methode von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) vorgenommen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Kapsel und das Stroma von Rinde und Mark weisen eine schwache gleichmäßige Reaktion in allen untersuchten Fällen auf. In den Wänden größerer Gefäße findet sich eine stärkere Formazan-Ablagerung.

b) Außenzone:

Die Zellen des Parenchyms lassen eine starke Reaktion in der 10. Woche erkennen, die in der 13. Woche weiter zugenommen hat und dann bis zur 40. Woche von gleicher Intensität bleibt. Im subkapsulären Bereich fällt ein schmaler Streifen mit stärkerer blauschwarzer Fällung auf.

c) Innenzone:

In der 10. Woche zeigt sich eine deutliche Fällung, die aber schwächer als in der Außenzone ist. In der 13. Woche hat die Formazan-Ablagerung an Intensität zugenommen und ist von gleicher Stärke wie in der Außenzone. Bis zur 40. Woche behält die Fällung in allen Schnitten unveränderte Stärke. Zum Mark hin wird die Färbung schwächer.

d) Mark

Das Markgewebe wird in der 13. Woche schwach gefärbt. Bis zur 20. Woche findet eine Zunahme der Reaktion statt, die aber deutlich geringer als in der Rinde ist und bis zur 40. Woche die gleiche Intensität behält.

4. Isocitronensäure-Dehydrogenase

Methodik:

Der histochemische Nachweis erfolgte nach der Methode von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958).

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Kapsel zeigt in allen Entwicklungsstadien eine gleichbleibend schwache Reaktion. Das Stroma von Rinde und Mark läßt eine schwache Fällung erkennen. Die Gefäßwände und ihre Umgebung werden durch eine starke Formazan-Ablagerung hervorgehoben.

b) Außenzone:

In den Zellsäulen der Außenzone findet sich in der 10. Woche eine deutliche Reaktion, die in der 13. Woche stark an Intensität zugenommen hat und bis zur 40. Woche diese Stärke behält. Direkt unter der Kapsel zeigt ein schmaler Bereich eine kräftigere Reaktion.

c) Innenzone:

Das Parenchym weist in der 10. Woche eine deutliche, aber gegenüber der Außenzone verminderte Fällung auf. In der 13. Woche hat es die Intensität der Außenzone erreicht und behält diese bis zur 40. Woche bei. Zum Markgewebe hin zeigt der Formazanniederschlag in allen Fällen eine geringe Abnahme.

d) Mark:

In allen untersuchten Präparaten läßt das Markgewebe eine Reaktion von mittlerer Intensität erkennen.

5. 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase

Methodik:

Für den histochemischen Nachweis des Enzyms wurde die Tetrazoliumsalzmethode nach LEVY, DEANE und RUBIN (1959) mit Dehydroepiandrosteron als Substrat benützt.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Fibrocyten der Kapsel und das Stroma von Rinde und Mark lassen keine Enzymaktivität in den untersuchten Stadien erkennen.

b) Außenzone:

Das Parenchym der Außenzone zeigt in der 10. Woche eine schwache Färbung in Form von gleichmäßig verteilten Farbstoffgranula in allen Rindenzellen. In der 16. Woche hat die Aktivität zugenommen und ist jetzt von mäßiger Stärke. Bis zur 24. Woche ist noch eine geringe Zunahme des Farbstoffes zu beobachten. In den folgenden Wochen bleibt die Reaktion unverändert gleich stark. Die Granula füllen die Zelle gleichmäßig aus, der Zellkern zeigt keine Anfärbung.

c) Innenzone:

In den Rindenepithelzellen der Innenzone findet sich in der 10. Woche eine schwache Enzymaktivität, die von der in der Außenzone beobachteten Stärke ist. In der 16. Woche ist eine Aktivitätszunahme festzustellen. Die Schnitte der 24. Woche zeigen eine Färbung von mäßiger Stärke, die der Intensität der Außenzone entspricht. Die folgenden Entwicklungsstadien zeigen wie in der Außenzone eine gleichbleibende mäßig starke Aktivität in allen Rindenepithelien.

d) Mark:

Die phäochromen Zellen des Nebennierenmarks lassen in den untersuchten

Präparaten keine Aktivität der 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase erkennen.

6. 17-β-Östradiol-Dehydrogenase

Methodik:

Der Nachweis des Ferments erfolgte mit der Methode nach PEARSON und GROSE (1959).

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Fibrocyten der Kapsel und das Stroma von Rinde und Mark lassen in den untersuchten Stadien keine Enzymaktivität erkennen.

b) Außenzone:

Das Parenchym der Außenzone zeigt in der 10. Woche eine schwache Färbung in Form von gleichmäßig verteilten Farbstoffgranula in allen Rindenzellen. In der 16. Woche hat die Aktivität zugenommen und ist jetzt von mäßiger Stärke. Bis zur 24. Woche ist noch eine geringe Intensivierung der Färbung zu beobachten. In den folgenden Stadien bleibt die Reaktion unverändert gleich stark. Die Farbstoffgranula füllen die Zelle gleichmäßig aus; der Zellkern zeigt keine Anfärbung.

c) Innenzone:

In den Rindenepithelzellen der Innenzone findet sich in der 10. Woche eine schwache diffuse Enzymaktivität, die von der in der Außenzone beobachteten Stärke ist. In der 16. Woche ist eine Aktivitätszunahme festzustellen. Die Schnitte der 24. Woche zeigen eine Färbung von mäßiger Stärke, die der Intensität der Außenzone entspricht. Die folgenden Entwicklungsstadien zeigen wie in der Außenzone eine gleichbleibend mäßig starke Aktivität in allen Rindenepithelien.

d) Mark:

Die phäochromen Zellen des Nebennierenmarks lassen in den untersuchten Präparaten keine Aktivität der 17-β-Östradiol-Dehydrogenase erkennen.

B. Hydrolasen

1. Ali-Esterase

Methodik:

Zum histochemischen Nachweis wurde die Azofarbstoff-Kupplungsreaktion nach NACHLAS und SELIGMAN (1949) verwendet.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

In der Kapsel ist zwischen der 20. und der 23. Woche eine sehr schwache Reaktion zu erkennen. Die übrigen Stadien zeigen keine Fällung. Das Stroma von Rinde und Mark weist in allen Fällen keine Reaktion auf. In den Gefäßwänden findet man keine Enzymaktivität.

b) Außenzone:

Das Parenchym weist von der 10. bis zur 28. Woche eine sehr starke Aktivität auf. Bis zur 40. Woche nimmt die Intensität mäßig ab. Unter der Kapsel fällt ein schmaler Streifen von nur geringer Reaktion auf. Man findet dort einen diffusen Niederschlag im Cytoplasma der Zellen. Dieses helle Band ist schon in der 16. Woche zu sehen. Die Kerne aller Parenchymzellen bleiben fast immer von der Fällung ausgespart.

c) Innenzone:

Die Innenzone zeigt in der 10. Woche eine mäßige Reaktion und hebt sich in dieser Zeit deutlich von der dunkleren Außenzone ab. Bis zur 20. Woche nimmt die Intensität zu, bleibt aber immer geringer als in den äußeren Rindenbereichen. Die Fällung behält bis zur 28. Woche die gleiche Stärke und verliert bis zur 40. Woche mäßig an Intensität. Zum Mark hin weist das Gewebe eine geringe Aktivitätsabnahme auf.

d) Mark:

Von der 13. Woche ab ist in allen untersuchten Präparaten eine schwache bis mäßig starke Reaktion zu finden, die bis zur 40. Woche keine Veränderung zeigt.

2. Cholin-Esterase und
3. Acetylcholin-Esterase

Methodik:

Zur histochemischen Differenzierung wurde für die Cholin-Esterase die Azofarbstoffmethode nach RAVIN (1951) mit dem spezifischen Substrat 6-Bromcarbonaphthoxicholinjodid und für die Acetylcholin-Esterase die Thioessigsäure-Methode von CREVIER und BELANGER (1955) in einer Modifikation von SAVAY und CSILLIK (1959) verwendet. - Als spezifische Inhibitoren wurden in einigen Versuchen den Cholin-Esterasen Eserinsulfat in 10^{-4}molarer Konzentration sowie Chininhydrochlorid in einer Konzentration von 1,0 mg/1,0 ml und "Mintacol" (Bayer) in 10^{-5}molarer Verdünnung zugesetzt. Die Aktivität der Acetylcholin-Esterase konnte spezifisch mit "Priscol" (CIBA) in einer Kon-

zentration von 1,0 mg/1,0 ml gehemmt werden.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

In der Kapsel sowie im Bindegewebe von Rinde und Mark ist eine sehr spärliche Reaktion von der 13. Woche ab in allen Schnitten zu lokalisieren, die bis zur 40. Woche keine Intensitätsänderung zeigt. In der Adventitia und Media der größeren Gefäße findet man eine etwas dichtere Präcipitation, während die kleineren Gefäße und die Kapillaren frei sind.

b) Außenzone:

Die Zellen der Außenzone zeigen in der 13. Woche eine diffuse schwache Fällung im Cytoplasma, die bis zur 40. Woche von unveränderter Intensität bleibt.

c) Innenzone:

Das Parenchym der Innenzone weist eine diffuse schwache Reaktion der Cholin-Esterase in allen Entwicklungsstadien auf, die der Außenzone entspricht.

d) Mark:

Im Mark ist eine sehr spärliche Cholin-Esterase-Reaktion in der 20. Woche festzustellen, die keine Intensitätsänderung bis zur 40. Woche erfährt. Hier kann in einzelnen Nervenzellen eine schwache Reaktion der Acetylcholin-Esterase von der 20. Woche an lokalisiert werden.

4. Aryl-Sulfatase

Methodik:

Der histochemische Nachweis wurde mit der zweizeitigen Azofarbstoff-Kupplungsmethode nach RUTENBURG, COHEN und SELIGMAN (1952) vorgenommen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Kapsel und das Stroma von Rinde und Mark lassen histochemisch keine Reaktion erkennen. In den großen Gefäßen finden sich vereinzelt schwach positive Fällungen. Die Wände kleinerer Gefäße sind negativ.

b) Außenzone:

Im Parenchym der Außenzone ist eine gleichmäßig verteilte diffuse Reaktion in der 10. Woche zu lokalisieren. Die geringe Färbung behält ihre Stärke unverändert bis zur 40. Woche, wobei die Granula im Cytoplasma gelegen sind.

c) Innenzone:

Die Innenzone weist in der 10. Woche eine sehr schwache Reaktion auf, die in ihrer Intensität unter derjenigen der Außenzone liegt. Die spärliche Fällung nimmt bis zur 13. Woche an Stärke zu und ist während dieser Zeit von gleicher Dichte wie in der Außenzone. Von da an ist bis zur 40. Woche keine Veränderung in der Reaktion mehr zu finden. Die Farbstoffgranula bleiben gleichmäßig über die ganze Innenzone verteilt.

d) Mark:

Im Mark ist während des gesamten untersuchten Zeitabschnittes keine Aktivität der Aryl-Sulfatase zu beobachten.

5. Unspezifische alkalische Phosphatase

Methodik:

Die Untersuchungen wurden mit einer modifizierten Azofarbstoff-Kupplungsmethode nach PEARSE (1960) vorgenommen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

In der Kapsel ist bis auf eine schwache Fällung in wenigen Schnitten in allen Entwicklungsstadien keine Färbung nachzuweisen. Das Bindegewebe von Rinde und Mark reagiert bis zur 40. Woche negativ. Die Wände größerer Gefäße heben sich durch eine geringgradige Präzipitation vom umgebenden Bindegewebe ab.

b) Außenzone:

Die Außenzone zeigt in der 10. Woche eine schwache bis mäßig starke Reaktion, die in der 16. Woche weiter zugenommen hat und bis zur 28. Woche gleiche Stärke behält. Von da an nimmt die Intensität bis zur 40. Woche mäßig ab. Die äußersten Zellschichten weisen eine schwächere Reaktion auf. In der gesamten Außenzone ist die Fällung nicht von gleichmäßiger Dichte, sondern bietet eine mehr fleckige Anordnung. Die Granula sind im Cytoplasma vor allem in der Zellperipherie lokalisiert. Die Zellkerne zeigen keine Reaktion.

c) Innenzone:

In der Innenzone reagieren die Parenchymzellen in der 10. Woche schwach. Die Aktivität nimmt im Verlauf der nächsten Wochen zu und behält bis zur 32. Woche mäßige Stärke; sie bleibt aber immer geringer als in der Außenzone. Bis zur 40. Woche ist ein leichter Schwund der Reaktion zu bemerken. Zum Mark hin nimmt die Fällung in allen Fällen geringgradig ab. Der Farb-

stoffniederschlag zeigt auch hier eine fleckige Anordnung.

d) Mark:
Im Mark ist von der 10. bis zur 40. Woche ein gleichbleibender schwacher diffuser Farbstoffniederschlag zu finden.

6. Unspezifische saure Phospatase

Methodik:

Zum histochemischen Nachweis der sauren Phosphatase wurde die Azofarbstoffmethode von GROGG und PEARSE (1952) benützt.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:
In der Kapsel ist in der 32. und 40. Woche eine geringe Anfärbung der Fibrocyten zu bemerken. Die übrigen Präparate zeigen keine Reaktion des Kapselbindegewebes. Das Stroma von Rinde und Mark läßt von der 10. bis zur 40. Woche keine Fermentaktivität erkennen. In der Media und Adventitia der größeren Gefäße ist eine deutliche Fällung zu verzeichnen.

b) Außenzone:
Die Außenzone zeigt in der 10. Woche eine geringe Reaktion in fleckförmiger Verteilung. Direkt unter der Kapsel sind nur vereinzelt Granula zu finden, deren Verteilung nach der Innenzone zu an Dichte zunimmt. In der 13. Woche hat die Färbung stark zugenommen und zeigt jetzt eine gleichmäßige Intensität in allen Schichten. Nach einer geringen Abnahme bis zur 20. Woche steigt die Aktivität bis zur 24. Woche wieder an und behält diese Stärke bis zum Ende der Fetalzeit. In der 40. Woche heben sich die äußersten subkapsulären Zellschichten durch eine intensivere Reaktion von der Umgebung ab. - Neben einer homogenen Grundanfärbung des Cytoplasmas sind die Reaktionsprodukte als Granula in der Zelle zu finden. Die Zellkerne zeigen im allgemeinen keine Anfärbung.

c) Innenzone:
In der 10. Woche findet sich eine noch schwächere Reaktion als in der Außenzone. In der 13. Woche ist eine deutliche Zunahme in der Intensität zu beobachten. Nach einer vorübergehenden Abnahme bis zur 20. Woche zeigen die Zellen in der 24. Woche eine mäßig starke Reaktion, die bis zur 40. Woche bestehen bleibt. In allen Entwicklungsphasen nimmt die Aktivität zur Rinden-Mark-Grenze hin deutlich ab. Die Stärke der Reaktion bleibt immer unter derjenigen der Außenzone, wobei aber die Grenze zur Außenzone durch eine kontinuierliche Zunahme der Intensität keine scharfe Trennung darstellt. Die intrazelluläre Ver-

teilung entspricht der in der Außenzone gefundenen.

d) Mark:

In allen untersuchten Fällen findet sich im Mark nur eine sehr geringe Reaktion in Form eines diffus verteilten Farbstoffniederschlages.

7. Leucin-Aminopeptidase

Methodik:

Das Enzym wurde mit der Azo-Kupplungsreaktion nach NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN (1956) nachgewiesen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

In der Kapsel ist von der 10. bis zur 40. Woche keine Aktivität der Leuzin-Aminopeptidase zu erfassen. Das Bindegewebe von Rinde und Mark zeigt in allen Schnitten keine Reaktion. In den Gefäßwänden ist ebenfalls keine Enzym-Aktivität darzustellen.

b) Außenzone:

In der 10. und der 13. Woche ist in den Parenchymzellen keine Aktivität zu finden. In der 16. und der 20. Woche läßt sich eine sehr schwache diffuse Reaktion darstellen. Neben einer homogenen Anfärbung in fleckiger Verteilung finden sich spärlich intrazellulär liegende Granula. Bis zur 32. Woche nimmt die Intensität ab, wobei einzelne Schnitte keine Aktivität mehr zeigen. In der 32. und 40. Woche ist kein Farbstoffniederschlag zu lokalisieren.

c) Innenzone:

Das Untersuchungsmaterial der 10. und 13. Woche zeigt keine Reaktion. In der 16. und 20. Woche ist eine geringe Aktivität des Enzyms zu erfassen, die derjenigen der Außenzone in Lokalisation und Stärke entspricht. In den folgenden Wochen nimmt die Intensität ab. In der 32. und 40. Woche ist keine Reaktion zu finden.

d) Mark:

Im Mark ist von der 10. bis zur 40. Woche histochemisch keine Aktivität der Leucin-Aminopeptidase zu erfassen.

8. Adenosintriphosphatase

Methodik:

Der Nachweis des Ferments wurde nach der Bleimethode von WACHSTEIN und MEISEL (1956) vorgenommen. An einigen Präparaten wurde mit BAL (2,3-Dimercapto-1-propanol) in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}$mol die unspezifische alkalische Phosphatase und mit Sulfhydril-Reagenz p-Chlor-Quecksilber-(I) benzoat in einer Konzentration von $4,5 \cdot 10^{-3}$mol die spezifische Adenosintriphosphatase gehemmt.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Fibrocyten der Kapsel und das Bindegewebe von Rinde und Mark weisen in allen untersuchten Fällen keine Aktivität auf. Dagegen findet sich von der 13. Woche ab eine deutliche Reaktion in der Muscularis der Arterien, Arteriolen und der Venen. Intima und Adventitia weisen keinen Niederschlag auf.

b) Außenzone:

Die Parenchymzellen der Außenzone zeigen von der 10. bis zur 40. Woche keine Aktivität der Adenosintriphosphatase im Cytoplasma und im Zellkern. In den kleineren Gefäßen findet sich in allen Schalten eine deutliche Fällung des schwarzen Farbstoffes.

c) Intermediärzone

Im parenchymatösen Gewebe der Intermediärzone ist von der 10. bis zur 40. Woche keine Enzymaktivität zu erfassen. Doch zeigen auch hier die Wände größerer und kleinerer Gefäße eine Reaktion der Muscularis.

d) Mark:

Im Markgewebe ist in allen Entwicklungsstadien keine Reaktion des Ferments zu erfassen. Nur in den Gefäßwänden ist ein Farbstoffniederschlag zu lokalisieren.

9. Phosphoamidase

Methodik

Das Enzym wurde mit der Bleinitratmethode von MEYER und WEINMANN [illegible]

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die [illegible] der Kapsel und des Bindegewebsgerüstes von Rinde und Mark

weisen in der 13. Woche eine sehr schwache diffuse Reaktion auf, wobei die Kerne etwas dunkler gefärbt sind. Dieses Bild bleibt bis zur 40. Woche unverändert. In den Wänden mittlerer und großer Gefäße ist eine mäßige Aktivität des Enzyms zu finden.

b) Außenzone:

In der 13. Woche zeigen die Parenchymzellen eine sehr schwache Fällung im Cytoplasma und eine deutliche Schwärzung des Zellkerns. Die Aktivitat ist in der ganzen Zone gleichmäßig verteilt. Bis zur 40. Woche treten keine Veränderungen in der Intensität und der Lokalisation auf.

c) Innenzone:

Die Zellen der Innenzone weisen in der 13. Woche eine sehr geringe Aktivität im Cytoplasma in staubartiger Verteilung und eine deutliche Reaktion in den Zellkernen auf. Die Stärke entspricht der in der Außenzone gefundenen. Die folgenden Entwicklungsstadien zeigen bis zur 40. Woche keine Unterschiede gegenüber der 13. Woche.

d) Mark:

Im Mark ist in allen untersuchten Fällen nur in den Zellkernen eine schwache Aktivität zu finden. Das Cytoplasma zeigt keine Fällung.

10. β-Glucuronidase

Methodik:

Der histochemische Nachweis wurde mit der Methode nach FISHMAN und BAKER (1956) vorgenommen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

In der Kapsel läßt sich von der 10. Woche bis zum Ende der Fetalzeit keine Reaktion finden. Das Bindegewebe von Rinde und Mark zeigt ebenso während dieser Zeit keine Fällung. Die Gefäßwände lassen nur vereinzelt eine schwache Aktivität erkennen.

b) Außenzone:

In der 10. Woche findet sich ein sehr schwacher Farbstoffniederschlag in den Parenchymzellen, der gleichmäßig über die gesamte Außenzone verteilt ist. In der 13. Woche ist die Reaktion stärker geworden. Ihre Intensität nimmt bis zur 24. Woche noch geringgradig zu und ist in dieser Zeit von mäßiger Stärke. Von der 32. Woche ab finden sich unverändert mäßig starke Farbstoffniederschläge. Im zweiten und dritten Schwangerschaftsdrittel ist das Präzipi-

tat in der Außenzone mehr fleckförmig verteilt.

c) Innenzone:

Im Parenchym der Innenzone ist in der 10. Woche als Zeichen einer schwachen Glucuronidase-Aktivität eine geringe Präzipitation zu finden, die bis zur 40. Woche von gleicher Dichte bleibt. Die Reaktionsprodukte zeigen in der zweiten Schwangerschaftshälfte eine fleckförmige Verteilung. Von der 13. Woche ab ist die Enzymaktivität in der Innenzone deutlich schwächer als in der Außenzone. In der 28. Woche und in den folgenden Stadien ist kein Unterschied in der Reaktion der beiden Zonen mehr zu erfassen.

d) Mark:

Das Gewebe des Marks läßt von der 10. bis zur 40. Woche keine Glucuronidase-Aktivität erkennen.

11. β-D-Galaktosidase

Methodik:

Die Untersuchungen wurden mit der Azo-Farbstoffmethode von RUTENBURG et al. (1958) vorgenommen.

Befund:

a) Nebennieren-Bindegewebe:

Die Kapsel läßt von der 21. Woche an bis zum Ende der Fetalzeit eine schwache Enzymaktivität erkennen. Im Bindegewebe von Rinde und Mark ist eine schwache Reaktion von der 21. bis zur 40. Woche zu erfassen. Die großen und kleineren Gefäße heben sich durch eine intensive Fällung vom umgebenden Stroma ab. Der Farbstoff ist besonders dicht in der Intima, aber auch in der Media und der Adventitia lokalisiert.

b) Außenzone:

Die Parenchymzellen der Außenzone zeigen in der 10. Woche eine mäßig starke Reaktion von gleichmäßiger Dichte. Die mehr roten Granula deuten auf eine schwächere Aktivität der Galaktosidase hin. In der 13. Woche ist das Bild unverändert, doch haben die einzelnen Farbstoffpartikel eine mehr violette Tönung. In den folgenden Wochen ist ein deutlicher Anstieg der Aktivität zu beobachten. In der 21. Woche findet sich in der Außenzone eine intensive blauviolette Reaktion. Die Stärke nimmt im Verlauf der nächsten Wochen noch mäßig zu, so daß in der 32. und 40. Woche eine kräftige Blaufärbung als Zeichen starker Galaktosidase-Aktivität zu erkennen ist.

c) Innenzone:

In der Innenzone ist in der 10. und 13. Woche eine schwache Fällung zu beobachten, die geringer als in der Außenzone ist. Bis zur 21. Woche steigt die Aktivität an, bleibt aber immer schwächer als in der Außenzone. Die mäßig starke Reaktion nimmt bis zur 40. Woche nur noch gering an Intensität zu. Die intrazellulär gelegenen Granula sind mehr violett gefärbt. Bis zur Rinden-Mark-Grenze ist die Färbung in allen Präparaten von gleicher Dichte.

d) Mark:

Das Markgewebe zeigt in der ersten Schwangerschaftshälfte keine Enzymaktivität. Die erste Reaktion ist in der 28. Woche als zarte rote bis rot-violette Fällung zu erkennen. Bis zur 40. Woche bleibt sie von unveränderter Stärke.

C. ENTWURF EINES ENZYM-MUSTERS DER MENSCHLICHEN FETALEN NEBENNIERE

1. OXIDOREDUKTASEN

a) Succinodehydrogenase, Diaphorasen, Lactat-Dehydrogenase, Isocitronensäure-Dehydrogenase

Die Succinodehydrogenase, die Diaphorasen und die mit den Pyridinnucleotiden als Coenzyme arbeitenden Fermente Lactat-Dehydrogenase und Isocitronensäure-Dehydrogenase zeigen das gleiche Verteilungsmuster und eine annähernd gleiche Stärke der Reaktion. Lediglich die NADP-Diaphorase läßt eine geringere Intensität als die übrigen Enzyme erkennen.

In der Nebennierenanlage ist in beiden Rindenzonen von der 16. Woche an eine starke Aktivität der Fermente nachzuweisen. Die jüngsten untersuchten Organe der 10. Woche zeigen dagegen eine schwächere Reaktion in Außen- und Innenzone. In den letzten Schwangerschaftsmonaten wird in der äußersten Schicht der Außenzone eine nach innen zu abnehmende dichtere Fällung gefunden. Sonst treten in der embryonalen Rinde keine quantitativen Differenzen in Erscheinung.

Die Markballen und das spätere Markorgan lassen eine mäßig starke Enzymaktivität in allen Schnitten erkennen. Im Bindegewebe findet sich in allen Stadien eine schwache Reaktion. Die Gefäßwände heben sich durch stärkere Färbung von der Umgebung ab.

Der Farbstoff ist in gleichmäßiger Verteilung im Cytoplasma der Zellen lokalisiert. Die Zellkerne bleiben von den Farbstoffpartikeln ausgespart.

b) Steroid-Dehydrogenasen

Die 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase und die 17-β-Östradiol-Dehydrogenase sind in gleicher Verteilung und Intensität in der fetalen Nebenniere nachzuweisen.

Die Anlage der 10. Woche enthält die Enzyme in schwacher Konzentration gleichmäßig verteilt in Außen- und Innenzone. Die Aktivität erfährt dann eine Steigerung bis zur 16. Woche. Danach ist bis zur 24. Woche eine Zunahme der Reaktion bis auf mäßig schwache Intensität zu bemerken. Die folgenden Entwicklungsstadien bis zur Geburt lassen in der Rinde die Steroid-Dehydrogenasen in mäßig starker Konzentration erkennen. Quantitative Unterschiede in den beiden Rindenzonen fallen nicht auf. Die Enzyme sind ausschließlich im Cytoplasma der Rindenepithelien zu finden. Die Zellkerne bleiben von der Fällung

ausgespart.

Das Nebennierenmark und die bindegewebigen Anteile des Organs zeigen in keiner Entwicklungsphase eine positive Reaktion.

2. HYDROLASEN

a) Ali-Esterase

Das Rindenparenchym weist in der 10. Woche bereits eine starke Aktivität in der Außenzone und eine etwas geringere in der Innenzone auf. Etwa von der 28. Woche an nimmt die Intensität der Färbung in beiden Zonen ab und ist bei der Geburt nur noch schwach bis mäßig stark. Der äußere Bereich der Außenzone hebt sich von der 16. Woche an durch seine geringere Reaktion von der Umgebung ab. Im Markgewebe ist von der 13. Woche an eine schwache Enzymaktivität nachzuweisen. Das Bindegewebe und die Gefäßwände enthalten bis auf die Zeit zwischen der 20. und der 23. Woche, in der eine schwache Reaktion zu erkennen ist, keine Farbstoffpartikel.

Die Farbstoffgranula sind vorwiegend im Cytoplasma zu finden, während der Zellkern nur eine schwache Färbung aufweist oder negativ reagiert.

b) Cholin-Esterasen

Das Parenchym der Rinde weist von der 13. Woche ab eine diffuse schwache Reaktion der Cholin-Esterasen im Cytoplasma auf. Unterschiede zwischen Innen- und Außenzone sind nicht zu beobachten. Die bindegewebigen Strukturen enthalten geringe Farbstoffmengen. In der Adventitia und Media größerer Gefäße fällt dagegen eine etwas dichtere Fällung auf. Die Markzellen zeigen von der 20. Woche an eine sehr spärliche Cholin-Esterasen-Aktivität und in einzelnen Nervenzellen eine schwache Reaktion der Acetylcholin-Esterase.

c) Aryl-Sulfatase

In der Innen- und Außenzone der Rinde ist von der 10. Woche an eine geringe diffuse, im Cytoplasma lokalisierbare Färbung nachzuweisen. Die Aktivität bleibt bis zur 40. Woche von unverändert schwacher Intensität. Im Mark ist keine Fällung zu lokalisieren. Kapsel und Stroma zeigen in den untersuchten Präparaten ebenfalls keine Anfärbung, während in den Wänden größerer Gefäße vereinzelt eine schwache Reaktion zu erfassen ist.

d) Unspezifische alkalische Phosphatase

Die Außenzone der Rinde, die immer stärker als die Innenzone reagiert, läßt in der 10. Woche eine mäßig starke Fällung erkennen, die bis zur 16. Woche zugenommen hat. Von der 28. Woche an nimmt die Aktivität wieder ab und ist in der 40. Woche von schwacher bis mäßig starker Intensität. Das Markgewebe wird in den untersuchten Präparaten schwach angefärbt. Im Stroma und in der Kapsel läßt sich keine Phosphatase-Aktivität erfassen.

Die Fällung ist im Rindenbereich häufig von fleckiger Anordnung. Die Farbstoffpartikel sind vor allem in der Zellperipherie angeordnet; der Zellkern zeigt keine Reaktion.

e) Unspezifische saure Phosphatase

In der 10. Woche ist in der Rinde eine schwache Anfärbung beider Zonen zu erkennen. Im Verlauf der weiteren Entwicklung nimmt die Aktivität des Enzyms zu und erreicht in der 40. Woche eine starke Intensität. Die Innenzone zeigt immer niedrigere Werte als die Außenzone. Das Mark enthält in allen Fällen nur wenig saure Phosphatase. Das Bindegewebe reagiert negativ. In der Kapsel sind in der 32. und 40. Woche geringe Anfärbungen der Fibrocyten zu bemerken.

Das Reaktionsprodukt zeigt sich neben einer homogenen Grundanfärbung in Form spezifischer Granula im Cytoplasma der Zellen.

f) Leucin-Aminopeptidase

Das Enzym ist von der 16. Woche an in Form von spärlich verteilten, intrazellulär liegenden Granula sowohl in der Außenzone wie auch in der Innenzone zu finden. Nach der 20. Woche nimmt die Aktivität ab. Von der 32. Woche an ist keine Fällung im Rindenbereich mehr nachzuweisen. Mark und Bindegewebe enthalten keine histochemisch erfaßbare Leucin-Aminopeptidase.

g) Adenosintriphosphatase

In den Rindenepithelien und im Markgewebe läßt sich histochemisch keine Adenosintriphosphatase erfassen. Im Bindegewebe des Organs und in der Kapsel findet sich in den untersuchten Entwicklungsphasen keine Enzymaktivität. Dagegen zeigen sich deutliche Fällungen in der Muscularis der Arterien, Arteriolen und Venen von Kapsel, Rinde und Mark aller untersuchten Fälle.

h) Phosphoamidase

Die Parenchymzellen der Rindenzonen enthalten von der 13. Woche an eine gleichmäßig auftretende schwache Aktivität im Cytoplasma in staubartiger Verteilung. Die Zellkerne färben sich kräftig an und heben sich deutlich vom helleren Cytoplasma ab. Quantitative Unterschiede zwischen Außen- und Innenzone lassen sich nicht beobachten. Die Enzymaktivität erfährt bis zur Geburt keine Veränderung. Im Mark zeigen nur die Zellkerne eine Phosphoamidase-Aktivität. Die Fibrocyten von Kapsel und Stroma lassen im Cytoplasma eine diffuse Anfärbung und in den Zellkernen eine stärkere Reaktion erkennen.

i) β-Glucuronidase

In der 10. Woche findet sich das Enzym in geringer Verteilung gleichmäßig in der Außen- und Innenzone der Nebennierenrinde. Von der 13. Woche an ist eine stärkere Aktivität in der Außenzone nachzuweisen, die bis zur 24. Woche anhält. Danach nimmt die Intensität der Färbung wieder ab. In der Innenzone bleibt die Reaktion von der 10. Woche bis zur Geburt unverändert. Von der 32. Woche an zeigen beide Zonen eine gleich schwache Enzymaktivität. Im Mark und in den bindegewebigen Formationen läßt sich histochemisch keine β-Glucuronidase erfassen.

k) β-D-Galaktosidase

Das Enzym ist in der 10. Woche in mäßiger Stärke in der Außenzone und in geringerer Intensität in der Innenzone zu finden, wobei die mehr roten Granula auf eine schwächere Reaktion hindeuten. Im Verlauf der nächsten Monate nimmt die Färbung laufend zu und erreicht am Ende der Schwangerschaft hohe Werte, worauf auch die Blaufärbung der Granula hinweist. Die Innenzone ist auch in den späteren Schwangerschaftsmonaten schwächer angefärbt als die Außenzone; im Mark läßt sich das Enzym von der 28. Woche an in Form einer schwachroten Fällung erfassen. Kapsel und Bindegewebe des Organs enthalten das Enzym von der 21. Woche an in geringen Mengen. Die stärker angefärbten Gefäße heben sich von der Umgebung ab.

D. VERGLEICH DER EIGENEN BEFUNDE ZUR LITERATUR

In der Literatur sind bisher wenige Untersuchungen über Enzyme in der fetalen Nebenniere mitgeteilt worden. Ein Teil beruht auf Beobachtungen an Versuchstieren, die nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden können. Ein Vergleich der eigenen histochemischen Befunde mit den Ergebnissen der Autoren des Schrifttums zeigt eine weitgehende Übereinstimmung in Lokalisation und Aktivität der Fermente.

Die Succinodehydrogenase wurde in den eigenen Untersuchungsreihen in der 10. Schwangerschaftswoche nachgewiesen. Nach den Angaben von DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) ist das Enzym in der 9. Schwangerschaftswoche noch nicht, dagegen in der 11. Woche in beiden Rindenzonen zu finden. Dieses Enzym scheint demnach zum ersten Mal bei Feten der 10. Woche aufzutreten. Eine sichere Aussage ist aber nicht möglich, da in den eigenen Untersuchungen keine Feten aus dem ersten Schwangerschaftsdrittel enthalten sind. Die eigenen Befunde der 16. Woche bestätigen in der gleich starken Anfärbung von Außen- und Innenzone die Ergebnisse von ROSSI, PESCETTO und REALE (1957), jedoch ließen sich die von ihnen im 5. Monat beschriebenen quantitativen Unterschiede beider Rindenzonen nicht finden. Vielmehr zeigte das Nebennierenrindengewebe während der zweiten Schwangerschaftshälfte eine gleichmäßige Anfärbung in allen Bereichen.

Die über die NAD-Diaphorase erhobenen Befunde entsprechen in Intensität und Verteilung auf die Rindenzonen den Ergebnissen von DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) sowie von JIRASEK und LOJDA (1964), die das Enzym von der 9. Woche an sowohl in der Außenzone als auch in der Innenzone nachweisen konnten. Ferner wurden in der zweiten Schwangerschaftshälfte Untersuchungen vorgenommen, die in beiden Rindenzonen eine gleich starke intensive Reaktion des Gewebes ergaben.

Die eigenen Befunde über die Lactat-Dehydrogenase ergänzen die bisher vorliegenden Untersuchungen von JIRASEK und LOJDA (1964), die Nebennieren von Feten bis zur 26. Woche erfaßten. Das jüngste Organ der 10. Woche zeigt aber im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen eine stärkere Reaktion in der Außenzone und eine schwächere im Zentrum der Anlage. In den folgenden Entwicklungsstadien läßt sich bis zur 40. Schwangerschaftswoche eine gleiche Intensität der Reaktion in beiden Rindenzonen darstellen. Zum Mark hin ist eine geringe Abnahme der Fällung zu verzeichnen.

DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) beobachteten in der 11. Schwan-

gerschaftswoche eine positive Reaktion der 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase in der Innen- und Außenzone menschlicher Feten, während in der 9. Woche keine Enzymaktivität gefunden wurde. Die eigenen Untersuchungen ergaben eine schwache Reaktion der Rindenanlage in der 10. Schwangerschaftswoche. Demnach ist ab der 10. Woche mit einer Aktivität des Enzyms zu rechnen. Die weiteren Beobachtungen bis zur 20. Schwangerschaftswoche bestätigen die Ergebnisse von DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961). Darüber hinaus wurde in eigenen Untersuchungen bis zum Ende der Fetalzeit eine Zunahme der Enzymaktivität in beiden Rindenzonen beobachtet.

Über das Vorkommen der Ali-Esterase in fetalen menschlichen Nebennieren liegen in der Literatur Ergebnisse bis zur 28. Schwangerschaftswoche vor. Während ROSSI, PESCETTO und REALE (1957) in der 10. Woche keine Aktivität nachweisen konnten, fanden DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) das Enzym in der 9. Woche in beiden Rindenzonen. Diese Befunde werden durch die eigenen Beobachtungen erhärtet, die eine kräftige Anfärbung der Rindenepithelien in der 10. Woche ergeben. Die Abnahme der Reaktion in beiden Rindenzonen entspricht den Ergebnissen von DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) und von JIRASEK und LOJDA (1964). Über die bisher bekannten Befunde hinaus ergaben eigene Untersuchungen in der 2. Schwangerschaftshälfte einen weiteren Abfall der Enzymaktivität bis zum Ende der Fetalzeit in beiden Zonen der Nebennierenrinde. Das Mark weist von der 13. Woche an eine schwache Aktivität auf.

Die im ersten Teil dieser Arbeit beschriebenen bisherigen Angaben über die Lokalisation der Unspezifischen alkalischen Phosphatase in der fetalen Nebenniere weisen deutliche Differenzen auf. Während ROSSI, PESCETTO und REALE (1951) bis zum 9. Monat eine Aktivitätsminderung vor allem der Außenzone beobachteten, fanden DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) in der zweiten Schwangerschaftshälfte eine auf die Außenzone beschränkte Enzymaktivität. Die eigenen Beobachtungen ergeben eine kräftige Anfärbung der Rindenbereiche in der 10. Woche und eine Zunahme in den folgenden Wochen. Die Aktivität zeigt ein Maximum um den 6. und 7. Monat. Bis zur Geburt ist eine Abnahme der Reaktion zu bemerken. Im Gegensatz zu ROSSI, PESCETTO und REALE (1951) und McINTOSH (1960) weist die Außenzone in allen untersuchten Entwicklungsstadien höhere Aktivitäten auf als die Innenzone.

Über die Unspezifische saure Phosphatase liegen Beobachtungen an fetalen Nebennieren bis zur 20. Schwangerschaftswoche vor. Während ROSSI, PESCETTO und REALE (1953) und JIRASEK, LOJDA und JIRASEK (1960) in den frühen Entwicklungsphasen eine stärkere Anfärbung der inneren Rindenbezirke fanden, wiesen DAWSON, PRYSE-DAVIES und SNAPE (1961) bis zum 5. Monat eine deutliche Aktivität in beiden Rindenzonen nach. Die eigenen Untersuchun-

gen ergeben bis zu diesem Zeitpunkt vergleichbare Resultate. In der zweiten Schwangerschaftshälfte nimmt die Aktivität weiter zu und ist zum Zeitpunkt der Geburt von starker Intensität.

Die β-Glucuronidase wurde in Nebennieren von Feten bis zu 65 mm Länge (etwa 10. Woche) beobachtet (VACEK 1960). Die vorliegenden Untersuchungen ergeben von der 10. Schwangerschaftswoche an eine geringe Anfärbung in beiden Rindenzonen, die bis zum Ende der Schwangerschaft an Stärke zunimmt. Mark und Bindegewebe zeigen keine Reaktion.

Über die anderen untersuchten Enzyme - die NADP-Diaphorase, die Isocitronensäure-Dehydrogenase und die 17-β-Östradiol-Dehydrogenase, sowie die Aryl-Sulfatase, die Leucin-Aminopeptidase, die Cholin-Esterasen, die ATPase, die Phosphoamidase und die β-Galaktosidase - liegen bisher noch keine vergleichbaren Ergebnisse vor. Die eigenen Befunde über das Auftreten dieser Fermente in menschlichen fetalen Nebennieren wurden im vorhergehenden Kapitel beschrieben.

E. KORRELATION DER ENZYM-HISTOTOPOCHEMIE ZUR FUNKTION UND ENDOKRINOLOGIE DER FETALEN NEBENNIERE

Das Nebennierengewebe bietet schon vor der Geburt Merkmale einer spezifischen Leistung, die in den früheren Abschnitten aufgezeigt wurden. Durch biochemische Methoden und mit histochemischen Verfahren lassen sich Hinweise auf eine eigene Hormonproduktion des fetalen Organismus gewinnen. Dabei hat der Zusammenhang der untersuchten Enzyme mit der Steroidbildung eine besondere Bedeutung.

Eine größere Anzahl der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Oxidoreduktasen gibt einen Hinweis auf den allgemeinen Funktionszustand der einzelnen Zelle. So gehört die Succinodehydrogenase in den Mitochondrien zum Fermentsystem der Atmungskette (Succinat-Cytochromsystem, DIXON und WEBB 1958). Die Diaphorasen übertragen in der biologischen Oxidation den Wasserstoff auf Cytochrom c und andere noch ungenügend bekannte Akzeptoren. Die Lactat-Dehydrogenase und die Isocitronensäure-Dehydrogenase sind an der Glykolyse und den oxidativen Verbrennungsvorgängen im Citronensäurecyclus beteiligt. Die Aktivität dieser Enzyme in beiden Rindenzonen deutet auf eine hohe Funktion des Gewebes hin, wenn auch keine unmittelbare Beteiligung an der Steroidbiosynthese vorliegt. Dabei scheinen keine bedeutsamen Unterschiede zwischen Außen- und Innenzone zu bestehen, da die gesamte fetale Rinde von der 10. bis zur 32. Schwangerschaftswoche eine gleich starke Reaktion zeigt. Die in den letzten Schwangerschaftswochen kräftiger angefärbte Außenzone und die nach dem Mark zu abnehmende Reaktionsintensität läßt eine Steigerung der Funktion im Bereich der Außenzone vor der Geburt vermuten.

Im Unterschied zu den eben beschriebenen Enzymen sind die beiden spezifischen Steroiddehydrogenasen direkt an der Katalyse der Steroidhormone beteiligt. Die 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Δ^5-Pregnenolon in Progesteron (SAMUELS et al. 1951) und von Dehydroepiandrosteron in Androstendion. Das Enzym 17-β-Östradiol-Dehydrogenase beschleunigt die reversible Dehydrierung von Östron zu 17-β-Östradiol. Durch den Nachweis dieser NAD-abhängigen substratspezifischen Oxidasen gelingt die Identifizierung von Steroidhormone produzierendem Gewebe. Die Ergebnisse sind nach FUHRMANN (1963) mit gewissen Einschränkungen zu bewerten, da es sich bei den histochemischen Verfahren um einen indirekten Nachweis handelt.

Die schwache Reaktion der beiden Enzyme in der Nebennierenrinde von Feten der 10. Schwangerschaftswoche läßt eine schon bestehende, wenn auch noch geringe endokrine Funktion des Organs zu diesem Zeitpunkt vermuten. Diese histochemischen Befunde stehen in Einklang mit den biochemischen Untersuchungen von BLOCH et al. (1956) und BLOCH und BENIRSCHKE (1959), die aus Extrakten von Organen der 9. bis 23. Schwangerschaftswoche C-19-Steroide isolieren konnten und nach Inkubation mit 1-C^{14}-Acetat in der ersten Schwangerschaftshälfte vor allem Androgene fanden. Allerdings spricht die deutliche Aktivität der 17-β-Östradiol-Dehydrogenase auch für eine Bildung von Östrogenen. Die Synthese scheint in beiden Rindenzonen in gleicher Stärke abzulaufen, da sich histochemisch keine Unterschiede in der Anfärbung der Rindenbereiche beobachten lassen.

Dem Anstieg des Gesamtcorticoidgehalts in der zweiten Schwangerschaftshälfte (STAEMMLER 1953) geht histochemisch eine Aktivitätssteigerung der Steroid-Dehydrogenasen in derselben Zeit parallel. Auch während dieser Entwicklungsphase bieten die Rindenzonen in der Enzymaktivität das Verteilungsmuster der 10. Woche, so daß Innen- und Außenzone in der Fetalzeit in gleichem Maße an der Steroidhormonproduktion beteiligt zu sein scheinen.

Im Gegensatz zu den Oxidoreduktasen, deren Funktion im Stoffwechsel weitgehend geklärt ist, ist von vielen Hydrolasen die biologische Bedeutung noch unzureichend abgeklärt.

Die Ali-Esterasen, die vor allem in den Mikrosomen lokalisiert sind (DE DUVE 1959), greifen vorwiegend aliphatische Ester an. Dabei handelt es sich um eine Anzahl von Fermenten, die nach der Art des gespaltenen Substrats unterschieden werden und wahrscheinlich auch verschiedene physiologische Funktionen haben. VERNE (1956) hielt eine Beteiligung der Enzymgruppe an der Steroidsynthese für unwahrscheinlich, da er in der Nebennierenrinde keine Esterasen nachweisen konnte. Nach seiner Ansicht ist höchstens an eine Mitwirkung bei der Progesteronbildung im Corpus luteum und bei der Testosteronbildung im Hoden zu denken. Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich eine starke Reaktion der Esterasen zu Beginn des zweiten Schwangerschaftsdrittels, die im Verlauf der folgenden Monate abnimmt. Dieser Aktivitätsabnahme steht die Steigerung der Steroid-Dehydrogenasen-Aktivität in der zweiten Schwangerschaftshälfte gegenüber, so daß den Esterasen keine bedeutende Rolle in der Steroidbiosynthese zugesprochen werden kann. Vielmehr scheinen sie an der Proteinsynthese mitzuwirken (LEUTHARDT 1959), die besonders in den ersten Monaten des raschen Organwachstums gesteigert ist. In gutem Einklang mit dieser Hypothese steht die starke Wachstumstendenz der fetalen Nebenniere - vor allem der Rindenbezirke - in der ersten Schwangerschaftshälfte, die zur relativ größten Ausdehnung des Organs während der Fetalzeit im 4. Schwangerschaftsmonat führt.

Während die spezifische Acetylcholin-Esterase mit ihrer Funktion als Überträgersubstanz im zentralen und autonomen Nervensystem im Steroidstoffwechsel ohne Bedeutung ist, ist eine Beteiligung der auch als Pseudocholinesterasen bezeichneten unspezifischen Cholin-Esterasen zu diskutieren. Neben Cholinestern spalten sie auch aliphatische und aromatische Ester und greifen damit in den Wirkungsbereich der unspezifischen Esterasen ein. Jedoch lassen das sehr spärliche Auftreten von Reaktionsprodukten in Rinde und Mark und die Aktivität des Enzyms in den bindegewebigen Formationen und Gefäßwänden eine Rolle bei der Steroidbildung nicht glaubhaft erscheinen.

Die Aryl-Sulfatase ist als Katalysator der Hydrolyse aromatischer Sulfate in der Natur weit verbreitet. Über ihre Funktion im Stoffwechsel ist wenig bekannt. SUZUKI, TAKAHASHI und EGAMI (1957) und ROY (1960) denken an eine Bedeutung als Sulfat-Transferase, womit diesem Ferment die Befähigung zur Steroidsulfatsynthese zukommen würde. PULKKINEN (1961) konnte die Spaltung verschiedener Steroidsulfate durch menschliches Placentar- und fetales Lebergewebe nachweisen. Demnach scheint die Aktivität des Enzyms mit der Entgiftung und Ausscheidung körperschädlicher Stoffe verknüpft zu sein. Die eigenen Untersuchungen ergeben eine geringe Aktivität der Sulfatase in der Rinde während der gesamten Beobachtungszeit. Dies spricht nicht gegen eine Bedeutung im Steroidstoffwechsel, da einerseits die Steroidproduktion des fetalen Organs nicht groß zu sein scheint, andererseits aber der mütterliche Organismus eine wichtige Rolle bei der Entgiftung des fetalen Blutes spielt.

Die unspezifischen Phosphomonoesterasen lassen sich nach der Einteilung von FOLLEY und KAY (1936) in die unspezifische alkalische Phosphatase (Typ 1) und die unspezifische saure Phosphatase (Typ 2 bis 4) trennen.

Die unspezifische alkalische Phosphatase besitzt durch die Fähigkeit zur Transphosphorylierung wahrscheinlich allgemeine Bedeutung im Zellstoffwechsel. Ihre spezifischen Funktionen werden neben der Beteiligung an der Verknöcherung und dem Transport von Glucose und anderen Zuckern in der Synthese von Protein-Fibrillen vermutet (RICHTERICH 1958). Der in den Untersuchungen gefundene Aktivitätsverlauf des Enzyms während der Entwicklung spricht nicht für eine wichtige Funktion bei der Biosynthese der Steroide. Vielmehr läßt sich die Zunahme der Aktivität im zweiten Schwangerschaftsdrittel zu der raschen Größenzunahme der fetalen Nebenniere während dieses Stadiums in Beziehung setzen. Für eine Wirksamkeit im Proteinstoffwechsel spricht auch die gegenüber der Innenzone erhöhte Aktivität der Außenzone, welche gegen Ende der Schwangerschaft eine Steigerung des Wachstums erfährt.

Im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase zeigt die unspezifische saure Phosphatase im Verlauf der Schwangerschaft eine zunehmende Aktivität in beiden Rindenzonen, während im Mark nur eine geringe Reaktion zu beobach-

ten ist. Diese Steigerung läßt sich nicht allein mit der von NOVIKOFF (1959) und LOBEL, ROSENBAUM und DEANE (1961) vermuteten Funktion bei der intrazellulären Verdauung und Autolyse erklären. Vielmehr kann die zunehmende Aktivität des Enzyms, die der Vermehrung der Steroid-Dehydrogenasen und der Corticoidproduktion parallel geht, als ein Hinweis auf eine Beteiligung an der Steroidproduktion in der fetalen Nebenniere angesehen werden. Dabei lassen sich keine genauen Angaben über den Wirkungsmechanismus der sauren Phosphatase machen. Die Anreicherung des Enzyms in den Gefäßwänden ist durch eine Beteiligung bei der Steroidproduktion und der intrazellulären Verdauung nicht zu erklären.

Die Leucin-Aminopeptidase ist histochemisch nur von der 16. bis zur 32. Woche in beiden Rindenzonen in geringer Intensität zu erfassen, während das Mark in allen untersuchten Fällen keine Reaktion zeigt. Sowohl die geringe Anfärbung als auch das Verschwinden der Aktivität gegen Ende der Schwangerschaft sprechen gegen eine Rolle der Peptidase in der Steroidbiosynthese. Da das Enzym vor allem eine Spaltung von Peptidbindungen bewirkt und die Synthese von Eiweißstoffen in nur geringem Maße fördert, scheint ihre Bedeutung für die fetale Nebenniere bei der anabolen Stoffwechsellage des Organs gering zu sein.

Eine Adenosintriphosphatase-Aktivität konnte nur in den kleinen und größeren Gefäßen des fetalen Organs erfaßt werden. An eine Beteiligung am Stoffwechsel der Steroide ist nicht zu denken. Das Enzym ist aber durch die Katalyse von ATP zu ADP und AMP für das energetische Potential jeder Zelle wichtig.

Die auch als P-N-Hydrolase (AMMON 1959) bezeichnete Phosphoamidase war in nur schwacher Intensität in allen Strukturen der fetalen Nebenniere nachzuweisen. Die Zellkerne waren durch eine deutliche Reaktion stärker angefärbt. Sowohl die gleichmäßige Verteilung des Farbstoffs in Rinde und Mark wie auch die schwache Intensität der Enzymreaktion gegen Ende der Schwangerschaft machen eine Funktion im Steroidhaushalt unwahrscheinlich. Ihre Bedeutung dürfte vielmehr in einer Hydrolyse von Phosphoamiden, vielleicht auch von Phosphoproteiden innerhalb des allgemeinen Stoffwechselgeschehens der Nebennierenzelle sein. Zu erwägen ist auch eine Phosphat-Übertragung von Phosphoamiden auf Glucose zur Aktivierung der Verbrennungsvorgänge in der Zelle (HOLZER, BURROW und SMITH 1962).

Die Bedeutung der β-Glucuronidase im Nebennierenstoffwechsel ist umstritten. Das Enzym spaltet die β-glykosidische Bindung von Glucuronsäure mit aromatischen Aglykonen. Dabei besitzen die körpereigenen Aglykone vom Typ der Corticosteroide besondere Bedeutung (AMMON 1959). Manche Autoren schreiben dem Enzym eine hydrolytische Wirkung zu (LEVVY et al. 1948; LEVVY 1956). Eine Transferasefunktion (FISHMAN, GREEN 1956; NAYYAR, GLICK 1956) und eine Beteiligung am Stoffwechsel der Mucoide und Mucoproteide

(LINKER, MEYER, WEISSMANN 1955) werden diskutiert. FISHMAN (1956) sieht den Wirkungsmechanismus in einer Östrogen-Glucuronid-Bildung ("metabolic conjugation"), die für den Einfluß des Hormons auf die Geschlechtsorgane entscheidend ist. In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine gegen das Ende der Fetalzeit gesteigerte Aktivität der β-Glucuronidase gefunden. Dagegen ließ sich im Markgewebe keine Reaktion beobachten. Diese Ergebnisse können auf eine Beziehung des Enzyms zum Hormonstoffwechsel des fetalen Organs hinweisen, da sowohl die Aktivität der spezifischen Steroid-Dehydrogenasen als auch die Menge gebildeter Steroide in ähnlicher Weise ansteigende Werte zeigen. Bestärkt wird die Vermutung durch die früher beschriebene Aktivität der 17-β-Östradiol-Dehydrogenase mit ihrem Angriff in der Östrogensynthese, die für die Hypothese von FISHMAN (1956) von Bedeutung ist.

Im Corpus luteum wurde von LEVVY et al. (1961) biochemisch neben der β-Glucuronidase reichlich β-D-Galaktosidase gefunden. Die eigenen Untersuchungen ergaben eine zarte, erst im letzten Schwangerschaftsdrittel auftretende Reaktion des Marks und eine deutliche Rindenaktivität in der 10. Woche, die bis zum Schwangerschaftsende starke Intensität erreicht. Der Aktivitätsverlauf, der eine deutliche Parallele in der Steigerung der Steroidproduktion findet, läßt vermuten, daß das Enzym neben einer Beteiligung am Stoffwechsel der Glykoproteide und Mucopolysaccharide (CONCHIE, FINDLAY, LEVVY 1959) auch Beziehungen zum Steroidstoffwechsel hat.

Nach den vorliegenden histochemischen Untersuchungen und unter Berücksichtigung der bekannten Literaturangaben bietet die menschliche fetale Nebenniere das Bild eines Organs von hoher Stoffwechselaktivität und schon frühzeitig beginnender aktiver endokriner Funktion. Dies zeigen sowohl die bei den Oxidoreduktasen gefundenen Ergebnisse wie auch die über die Steroid-Dehydrogenasen erhobenen Befunde. Die Synthese von Androgenen, aber auch von Östrogenen, wie die Aktivität der 17-β-Östradiol-Dehydrogenase zeigt, scheint gleichermaßen in Innen- und Außenzone stattzufinden, wobei der Innenzone auf Grund ihrer mächtigen Entwicklung in der Fetalzeit die wichtigste Rolle bei der Steroidproduktion zuzumessen ist. Über die Bedeutung dieser Hormonbildung lassen sich nach den bisherigen Ergebnissen keine sicheren Aussagen machen. Ein Einfluß auf die Entwicklung der fetalen Genitalorgane ist nicht auszuschließen. Hier können weitere Untersuchungen an früheren Entwicklungsstadien mehr Klarheit bringen, da die makroskopische Differenzierung der anfangs indifferent ausgebildeten äußeren und inneren Geschlechtsorgane etwa am Ende des 2. Schwangerschaftsmonats beginnt. Dabei könnte den bisher in überwiegendem Maße im fetalen Nebennierengewebe gefundenen Androgenen eine Bedeutung für die Ausprägung des äußeren männlichen Genitale zukommen.

Ein weiterer Wirkungsmechanismus ist im direkten Angriff der in der fetalen Nebenniere produzierten Sexualhormone am Aufbau körpereigener Eiweißstoffe zu denken. Dieser anabole Effekt würde einen Ausgleich bilden zu den gleichzeitig ablaufenden Verbrennungsprozessen, die von den katabol wirkenden Glucocorticoiden und von anderen endokrin aktiven Substanzen gefördert werden. Vermutlich wird das fetale Rindenorgan in dieser Funktion von in der Placenta gebildeten Steroiden unterstützt.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Mit bekannten histochemischen Techniken wurde die Aktivität von sechs Oxidoreduktasen (Succinodehydrogenase, NAD- und NADP-Diaphorase, Lactat-Dehydrogenase, Isocitrat-Dehydrogenase, 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase, 17-β-Östradiol-Dehydrogenase) und von elf Hydrolasen (Ali-Esterase, Cholin-Esterase, Acetylcholin-Esterase, Aryl-Sulfatase, unspezifische alkalische Phosphatase, unspezifische saure Phosphatase, Leucin-Aminopeptidase, Adenosintriphosphatase, Phosphoamidase, β-Glucuronidase, β-D-Galaktosidase) in Nebennieren von zwanzig menschlichen Feten von der 10. bis zur 40. Schwangerschaftswoche untersucht.

Nach einem ausführlichen Überblick über die Morphologie, Funktion und Endokrinologie der fetalen Nebenniere wird eine Darstellung der bisherigen histochemischen Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der enzymhistochemischen Befunde gegeben.

Die eigenen Untersuchungen am fetalen Organ ergänzen die bekannten Befunde anderer Autoren. Über die NADP-Diaphorase, die Isocitrat-Dehydrogenase, die 17-β-Östradiol-Steroid-Dehydrogenase, die Cholin-Esterasen, die Aryl-Sulfatase, die Leucin-Aminopeptidase, die Adenosintriphosphatase, die Phosphoamidase und die β-D-Galaktosidase liegen bisher in der Literatur noch keine Untersuchungen vor.

Die Succinodehydrogenase, die Diaphorasen, sowie die Lactat- und die Isocitrat-Dehydrogenase zeigen im Verlauf der fetalen Entwicklung eine deutliche Aktivitätszunahme in beiden Rindenzonen. Dies wird als Zeichen einer zunehmenden Funktion der Rindenepithelien gewertet. Die beiden spezifischen Steroid-Dehydrogenasen finden sich schon in der 10. Woche und lassen bis zum Ende der Fetalzeit in gleichem Maße eine Steigerung der Aktivität erkennen. Hierdurch wird die Fähigkeit des fetalen Organs, schon in den ersten Monaten Steroide zu synthetisieren, verdeutlicht. Der Ali-Esterase, den Cholin-Esterasen und der unspezifischen alkalischen Phosphatase können auf Grund der gefundenen Ergebnisse keine entscheidenden Rollen im Stoffwechsel der Rindenhormone zugewiesen werden. Dagegen ist eine Beteiligung der sauren Phosphatase an der Synthese der Steroide in Erwägung zu ziehen. Die Aryl-Sulfatase, die Leucin-Aminopeptidase und die Phosphoamidase sind nur in geringen Mengen während der fetalen Entwicklung nachweisbar. Eine Adenosintriphosphatase-Aktivität läßt sich nur in den Gefäßwänden erfassen. Von Wichtigkeit für den Steroidstoffwechsel können nach den gefundenen Ergebnissen die beiden Glykosidasen sein. Die negativen Befunde im Mark und die deutliche Zunahme

der Enzymaktivitäten in beiden Rindenzonen lassen Beziehungen zum Steroidstoffwechsel möglich erscheinen.

Die Funktion der fetalen Nebenniere und ihre Beteiligung an endokrin gesteuerten Vorgängen im fetalen Organismus werden abschließend diskutiert.

Die vorliegende Untersuchung bringt durch die Darstellung von 17 Enzymen in der menschlichen fetalen Nebenniere einen Beitrag zu einem Enzymmuster dieses Organs.

G. LITERATURVERZEICHNIS

ALLEN, J.M.: A chemical and histochemical study of aliesterase activity in the adrenal cortex of the developing mouse. Anat.Rec. 130, 392 (1958).

ALLEN, J.M.: A chemical and histochemical study of DPN-diaphorase activity in the adrenal cortex of the developing mouse. Anat.Rec. 134, 385 (1959).

ALLEN, J.M.: Some encymatic properties of the X-zone of the mouse adrenal gland studied by cytochemical methods. Anat.Rec. 136, 153 (1960a).

ALLEN, J.M.: A histochemical study of 3-(beta)-sterol dehydrogenase in the adrenal cortex of the developing mouse. Anat.Rec. 137, 57 (1960b).

AMMON, R.: In R.AMMON und W.DIRSCHEL: Fermente, Hormone, Vitamine. Bd. 1, Fermente, 3. Aufl., Stuttgart: G. Thieme 1959.

ANDERSEN, H.: Sulphydryl "Nothing Dehydrogenase" activity and lactic dehydrogenase-$NADH_2$ cytochrome C reductase reactions in tissues of the human foetus. Acta histochem. 21, 120 (1965).

BACHMANN, R.: Handb. d. Mikr. Anatomie d. Menschen. 6. Bd., 5. Teil: Die Nebenniere. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.

BAXTER, J.S.: The growth cycle of the cells of the adrenal cortex in the adult rat. J.Anat. (Cond.) 80, 139 (1946).

BENIRSCHKE, K. und D.G. McKAY: The antidiuretic hormone in fetus and infant. Obstet. and Gynec. 1, 638 (1953).

BENIRSCHKE, K.: Adrenals in anencephaly and hydrocephaly. Obstet. and Gynec. 8, 412 (1956).

BENIRSCHKE, K., E. BLOCH und A.T. HERTIG: Concerning the function of the fetal zone of the human adrenal gland. Endocrinology 58, 598 (1956).

BENNET, H.S.: The life history and secretion of the cells of the adrenal cortex of the cat. Amer.J.Anat. 67, 151 (1940).

BIERICH, J.R., G. VOSS und E. OTTO: Untersuchungen zur postnatalen Involution der Nebennierenrinde und ihrer klinischen Bedeutung. 57. Tagg. dtsch. Ges. Kinderheilk. Graz 1958.

BIERICH, J.R.: In F. LINNEWEH: Die physiologische Entwicklung des Kindes. Berlin-Göttingen-Heidelberg. Springer 1959.

BLOCH, E., K. BENIRSCHKE und E. ROSEMBERG: C_{19}steroids, 17α-hydroxy-corticosterone and a sodium retaining factor in human fetal adrenal glands. Endocrinology 58, 626 (1956).

BLOCH, E. und K. BENIRSCHKE: Synthesis in vitro of steroids by human fetal adrenal gland slices. J.biol.Chem. 234, 1085 (1959).

BOURNE, G.H.: Vitamin C in the adrenal gland. Nature (Lond.) 131, 874 (1933).

BROMAN, J.: Die Entwicklung des Menschen vor der Geburt. München 1927.

CLARA, M.: Über die Beziehungen zwischen Epithel und Blutkapillaren. Anat.Anz. 90, 161 (1940).

CONCHIE, J., J. FINDLAY und G.A. LEVVY: Mammalian glycosidases distribution in the body. Biochem.J. 71, 318 (1959).

CREVIER, M. und L.F. BELANGER: Simple method for histochemical detection of esterase activity. Science 122, 556 (1955).

DANISCH: Vergleichende Untersuchungen über den Adrenalingehalt der Nebennieren und Zuckerkandlschen Organe. Verh.dtsch.path.Ges.Freiburg 1926, 222.

DAWSON, J.M.P., J. PRYSE-DAVIES und J.M. SNAPE: The distribution of 6 encyme systems and of lipid in the human and rat adrenal cortex before and after administration of steroid and ACTH with comments on the distribution in human foetusses and in some natural disease conditions. J.Path.Bact. 81, 181 (1961).

DEANE, H.W.: Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Ergänzungswerk 14,1: The adrenocortical hormones. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.

DEANE, H.W. und R.O. GREEP: A morphological and histochemical study of the rat's adrenal cortex after hypophysectomy, with comments on the liver. Amer.J.Anat. 79, 117 (1946).

DEANE, H.W. und R.O. GREEP: A cytochemical study of the adrenal cortex in hypo- und hyperthyroidism. Endocrinology 41, 243 (1947).

DHOM, G.: Die Nebennierenrinde im Kindesalter. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965.

DHOM, G. und H. FISCHER: Morphologische Grundlagen der Funktionsentwicklung des Hypophysenvorderlappens im Kindesalter. Beitr. path. Anat. 124, 57 (1961).

DHOM, G., W. ROSS und K. WIDOK: Die Nebennieren des Feten und des Neugeborenen. Beitr. path. Anat. 119, 177 (1958).

DIETRICH, A. und H. SIEGMUND: Die Nebenniere und das chromaffine System (Paraganglien, Steißdrüse, Karotisdrüse). In: Handb. d. spez. path. Anat. u. Hist. Bd. 8, 951 (1926).

DIXON, M. und E.C. WEBB: Encymes. Longmans, Green and Co., Ltd. London (1958).

DORP, A.W.V. und H.W. DEANE: A morphological and cytochemical study of the postnatal development of the rat's adrenal cortex. Anat. Rec. 107, 265 (1950).

DREWS, U.: Über das Verhalten der Esterasen - insbesondere der Cholinesterasen-Aktivität in der Nebennierenregion der Ratte während der Fetalzeit. Histochemie 4, 514 (1965).

DE DUVE, C.: The function of intracellular hydrolases. Exp. Cell. Res. Suppl. 7, 169 (1959).

EAGLE, J.F.: Dehydroepiandrosterone and similar substances in urine of premature infants. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 81, 571 (1952).

FISHMAN, W.H.: β-Glucuronidase. Advanc. Encymol. 16, 361 (1955)

FISHMAN, W.H. und J.R. BAKER: Cellular localisation of β-glucuronidase in rat tissues. J. Histochem. Cytochem. 4, 570 (1956).

FOLLEY, S.J. und H.D. KAY: The phosphatases. Ergebn. Enzymforsch. 5, 159 (1936).

FRAZÃO, J.V.: La méthode de McManus pour la recherche des glycoprotéines dans l'étude cytologique de la glande surrénale. C.R. Soc. Brol. (Paris) 146, 958 (1952).

FRAZÃO, J.V.: A glãndula córtico-suprarenal. Livraria Protugála, Lisboa 1954.

FUHRMANN, K.: Histochemische Untersuchungen über die Hydroxysteroid Dehydrogenase-Aktivität in Nebennieren und Eierstöcken von Ratten und Kaninchen. Arch. Gynäk. 197, 583 (1963).

GARDNER, L.J. und R.L. WALTON: Plasma 17-ketosteroids of the human fetus; demonstration of concentration gradient between cord and maternal circulations. Helv.paediat.Acta 9, 311 (1954).

GARDNER, L.J.: Adrenocortical metabolism of the fetus, infant and child. Pediatrics 17, 897 (1956).

GIROUD, A. und C.-P. LEBLOND: Localisations électives de l'acide ascorbique ou vitamine C. Arch.Anat.miev.Morph.exp. 31, 111 (1935).

GIROUD, A. und M. MARTINET: Valeur fonctionnelle de la zone foetale de la cortico-surrénale. C.R.Soc.Biol. (Paris) 135, 1028 (1941).

GOORMAGHTIGH, N.: Organogénèse et histogénèse de la capsule surrénale et du plexus coeliaque. Archives de Biol. 31, 83 (1921).

GOORMAGHTIGH, N. und L. ELAUT: Le plan de structure de la surrénale du cobaye d'après des données expérimentales. C.R.Soc.Biol.(Paris) 92, 733 (1925).

GOTTSCHAU, M.: Struktur und embryonale Entwicklung der Nebennieren bei Säugetieren. Arch.Anat.Physiol. Lpz. 1883, 412.

GRAUMANN, W.: Topochemische Untersuchungen über die perjodatreaktiven Stoffe in der Nebenniere des Goldhamsters. Acta histochem. (Jena) 2, 237 (1956).

GREEP, R.O. und H.W. DEANE: The cytology and cytochemistry of the adrenal cortex. Ann.N.Y.Acad.Sci. 50 (Art. 6), 596 (1949).

GROGG, E. und A.G.E. PEARSE: Critical study of histochemical technics for acid phosphatase, with descirption of azo-dye method. J.Path.Bact. 64, 627 (1952).

GRUENWALD, P.: Common traits in development and structure of the organs orginating from the coelomic wall, J.of Morph. 70, 353 (1942).

GRUENWALD, P.: Embryonic and postnatal development of the adrenal cortex, particularly the zona glomerulosa and accessory nodules. Anat.Rec. 95, 391 (1946).

HAMMAR, J.A.: A quelle époque de la vie foetale de l'homme apparaissent les premiers signes d'une activité endocrine? Uppsala Läk.för.Förh. 30, 5-6, 1055 (1925).

HESS, R., D.G. SCARPELLI und A.G.E. PEARSE: The cytochemical localisation of oxydative enzymes. 2.Pyridine nucleotide-linked dehydrogenases. J.Biochem.Biophys.Cytol. 4, 753 (1958).

HETT, J.: Ein Beitrag zur Histogenese der menschlichen Nebenniere. Z.mikr.-anat.Forsch. 3, 179 (1925).

HOERR, N.L.: The cells of the suprarenal cortex in the guinea pig, their reaction to injury and their replacement. Amer.J.Anat. 48, 139 (1931).

HOFFMANN, F.: Untersuchungen über die Progesteronbildung in der fetalen Nebenniere. Zbl.Gynäk. 69, 43 (1947).

HOLZER, M.E., D.J. BURROW und R.A. SMITH: Metabolism of phosphoamidates. 1.Encymic hydrolysis and transfer reactions. Biochim.Biophys. Acta 56, 491 (1962).

JIRÁSEK, M.J., M.Z. LOJDA und J.JIRÁSEK: Localisation of some encymes during the development of the urogenital system and the adrenal gland in man. Csl.Morfol. 8/3, 262 (1960).

JIRÁSEK, J.E. und M.Z. LOJDA: Ein histochemischer Beitrag zur Entwicklung der Nebennierenrinde menschlicher Embryonen und Feten. Acta histochem. 18, 65 (1964).

KEENE, M.F.L. und E.E. HEWER: Studies in foetal development. J.Obstetr. 1925.

KEENE, M.F.L. und E.E. HEWER: Development of human suprarenal gland. J.Anat. (Lond.) 61, 302 (1927a).

KEENE, M.F.L. und E.E. HEWER: Observations on the development of the human suprarenal gland. J.Anat. 61, 302 (1927b).

KELLOG, D.A. und G.G. GLENNER: Histochemical localization of human term placental 17 β-oestradiol dehydrogenase. Nature, Lond. 187, 763 (1960).

KLOOS, K. und H.J. STAEMMLER: Zur Morphologie und Pathophysiologie der Nebennierenrinde von Feten und Neugeborenen. Virchows Arch. path.Anat. 324, 285 (1953).

LACOMME, M., H. TUCHMANN-DUPLESSIS und L. MERCIER-PAROT: Contrôle neuro-endocrine de la cortico-surrénale du foetus humain. Gynéc.et Obstét. 63, 421 (1964).

LANDAU, M.: Die Nebennierenrinde. Jena 1915.

LANMAN, J.T. und L.M. SIVERMAN: In vitro steroidogenesis in the human neonatal adrenal gland, including observations on human adult and monkey adrenal glands. Endocrinology 60, 433 (1957).

LANMAN, J.T., S. SOLOMON, J. LIND und S. LIEBERMAN: In vitro biogenesis of steroids by the human fetal adrenal. Amer.J.Dis.Child. 94, 504 (1957).

LELKES, Z.: Der Adrenalingehalt der fetalen Nebenniere und des Paraganglion aorticum abdominale des Menschen. Endokrinol. 23, 259 (1941).

LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der physiol.Chemie. Verlag W. de Gruyter u. Co. (1959).

LEVVY, G.A., L.M.H. KERR und J.G. CAMPBELL: β-glucuronidase and cell proliferation. Biochem.J. 42, 462 (1948).

LEVVY, G.A., A. McALLAN und A.J. HAY: Glycosidases in the corpus luteum. J.Endocrin. 23, 19 (1961).

LEVY, H., H.W. DEANE und B.L. RUBIN: Visualization of steroid-3 β-ol-Dehydrogenase activity in tissues of intact and hypophysectomized rats. Endocrinology 65, 932 (1959).

LINKER, A. K. MEYER und B. WEISSMANN: Enzymatic formation of monosaccharides from hyaluronate. J.Biol.Chem. 213, 237 (1955).

LIVINI, F.: Notizie preliminari intorno alla presenza die glicogene in diversi organi di embrioni umani. Monit.zool.ital. 31, 56 (1920).

LOBEL, B.L., R.M. ROSENBAUM und H.W. DEANE: Enzymic correlates of physiological regression of follicles and corpora lutea in ovaries of normal rats. Endocrinology 68, 232 (1961).

McINTOSH, A.D.: The human foetal adrenal: a morphological and histochemical study with comment on the problem of function. Scott.med.J. 5/6, 242 (1960).

McKAY, D.G., E.C. ADAMS, A.T. HERTIG und S. DANZIGER: Histochemical horizons in human embryos. 1.Five millimeter embryo - Streeter's horizon 13. Anat.Rec. 122, 125 (1955).

McKAY, D.G., E.C. ADAMS, A.T. HERTIG und S. DANZIGER: Histochemical horizons in human embryos. 2,6 and 7 mm embryos - Streeter's horizon 14. Anat.Rec. 126, 433 (1956).

MEYER, J. und J.P. WEINMANN: A modification of Gomori's method for demonstration of phosphoamidase in tissue sections. J.Histochem. Cytochem. 3, 134 (1955).

MEYER, R.: Nebenniere bei Anencephalie. Virchows Arch.path.Anat. 210, 158 (1912).

MIGEON, C.: Dehydroepiandrosterone and androsterone levels in maternal and cord plasma. Adrenal function in infants and children. New York 1956.

MOOG, F.: Localisation of alkaline und acid phosphatase in the early embryogenesis of the chick. Biol.Bull. 86, 51 (1944).

MOOG, F.: The development of alkaline phosphomonoesterase in the gut of chick embryos and young chicks. Amer.Soc.Zool.Chicago Anat.Rec. 99, 608 (1947).

MOOG, F.: The development of function in the adrenal cortex. In: A. GORBMAN, Ed., Comparative Endocrinology, 624 New York, Wiley 1959.

NACHLAS, M.M. und A.M. SELIGMAN: The histochemical demonstration of esterase, J.nat.Cancer Inst. 9, 415 (1949).

NACHLAS, M.M., D.T. CRAWFORD und A.M. SELIGMAN: The histochemical demonstration of leucine aminopeptidase. J.Histochem.Cytochem. 4, 423 (1956).

NACHLAS, M.M., K.C. TSOU, E. DE SOUZA, C.S. CHENG und A.M.SELIGMAN: Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. J.Histochem. Cytochem. 5, 420 (1957).

NICHOLS, J.: Observations on the adrenal of the premature anencephalic fetus. Arch.Path. 62, 312 (1956).

NOVIKOFF, A.B.: Lysosomes and the physiology and pathology of cells. Biol.Bull. 117, 385 (1959).

PEARSE, A.G.E.: Cytological and cytochemical investigations on the fetal and adult hypophysis in various physiological and pathological states. J.Path.Bact. 65, 355 (1953).

PEARSE, A.G.E.: Histochemistry, Theoretical and Applied. Second Edition (Churchill, London 1960).

PEARSON, G. und F. GROSE: Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 159 636 (1959); zit. n. KELLOG und GLENNER (1960).

POLITZER, G.: Über die Frühentwicklung der Nebennierenrinde beim Menschen. Z. Anat. u. Entw. gesch. 106, 40 (1936).

PULKKINEN, M.O.: Arylsulphatase and the hydrolysis of some steroid sulphates in developing organism and placenta. Acta Physiol. Scand. 52, Suppl. 180, 1 (1961).

RAVIN, H.A., K.C. TSOU und A.M. SELIGMAN: Colorimetric estimation and histochemical demonstration of serum cholinesterase. J. biol. Chem. 191, 843 (1951).

REALE, E.: Sulle attività esterasiche durante li sviluppo prenatale dei roditori; ricerche in Mus musculus albinus. Riv. Istochim. norm. pat. 1, 551 (1955).

ROMEIS, B.: Hypophyse. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 6, Teil 3. Berlin: Springer 1940.

RICHTERICH, R.: Enzymopathologie. Enzyme in Klinik und Forschung. Springer Verlag 1958.

ROSS, PAPPAS, J.T. LANMAN und J. LIND: Electron microscope observations on the endoplasmatic reticulum in the human fetal adrenal. J. biophys. biochem. Cytol. 4, 659 (1958).

ROSSI, F., G. PESCETTO und E. REALE: La localizzatione istochimica della fosfati alcalina e le sue variazioni nel corso dello sviluppo prenatale dell'uomo. Z. Anat. Entw. Gesch. 115, 500 (1951).

ROSSI, F., G. PESCETTO und E. REALE: La reazione istochimica per la fosfatasi acido nello studio delle sviluppo prenatale dell'uomo. Z. Anat. Entw. Gesch. 117, 36 (1953).

ROSSI, F., G. PESCETTO und E. REALE: Studio dell'attività succinodeidrogenasica durante i processi di sviluppo prenatale dell'uomo. Monit. zool. Ital. Suppl. 65, 510 (1957).

ROTTER, W.: Die Entwicklung der fetalen und kindlichen Nebennierenrinde. Virchows Arch. path. Anat. 316, 590 (1949a).

ROTTER, W.: Das Wachstum der fetalen und kindlichen Nebennierenrinde. Z. Zellforsch. 34, 547 (1949b).

ROY, A.B.: The synthesis and hydrolysis of sulfate esters. Adv.Encymol. 22, 205 (1960).

RUNNEBAUM, B. und J. ZANDER: Progesteron, Δ^4-Pregnen-20-ol-3-on und 17α-Hydroxyprogesteron im Plasma der Nabelvene und der Nabelarterien. Klin.Wschr. 40, 453 (1962).

RUTENBURG, A.M., R.B. COHEN und A.M. SELIGMAN: Histochemical demonstration of arylsulfatase. Science 116, 539 (1952).

RUTENBURG, A.M., S.H. RUTENBURG, B. MONIS, R. TEAGUE und A.M. SELIGMAN: Histochemical demonstration of β-D-galactosidase in the rat. J.Histochem.Cytochem. 6, 122 (1958).

SAMUELS, L.T., M.L. HELMREICH, M.B. LASATER und H. REICH: An enzyme in endocrine tissues which oxydizes Δ^5-3-hydroxy steroids to α, β-unsaturated ketones. Science 113, 490 (1951).

SARASON, E.L.: Morphologic changes in the rat's adrenal cortes under various experimental conditions. A.M.A.Arch.Path. 35, 375 (1943).

SAVAY, G. und B. CSILLIK: Beiträge zur Methodik der histochemischen Cholinesterase-Reaktion. Acta histochem. 6, 307 (1959).

SCHABERG, A.: The influence of ACTH and the anterior lobe of the hypophysis on the adrenal cortex in vitro. Proc.Acad.Sci. (Amst.) C 60, 463 (1957).

SCHAUMKELL, K.W.: Das subkapsuläre Blastem der Rattennebenniere unter experimentellen Stressbedingungen. Anat.Anz. 102, 292 (1955).

SCHOEN, H.: Über die rhodiochromen chromotropen Stoffe in der Nebenniere unter Berücksichtigung ihres Vorkommens in den verschiedenen Lebensaltern. Zbl.Path. 91, 380 (1954).

SELIGMAN, A.M., CHAUNCEY, und M.M. NACHLAS: Effect of formaline fixation on the activity of five encymes of rat liver. Stain.Techn. 26, 19 (1951).

SOLOMON, S., J.T. LANMAN, J. LIND und S. LIEBERMAN: The biosynthesis of Δ^4 androstenedione and 17α-hydroprogesterone from progesterone by surviving fetal adrenals. J.biol.Chem.233, 1084 (1958).

SOULIE, A.: Sur les premiers stades du développement de la capsule surrénale chez quelques mammifères. C.R.Ass.Anat.Montpellier 1902, 67.

STAEMMLER, H.J.: Untersuchungen über die Funktion der fetalen und Neugeborenen-Nebennierenrinde, Arch.Gynäk. 182, 521 (1953).

STENZ, K.: Zur Morphologie der Inkretorgane von Frühgeburten, besonders der Nebennierenrinde. Frankf.Z.Path. 67, 568 (1956).

STONER, H.B. und J.L. EMERY: The effect of systemic disease on the adrenal cortex of the child. J.Path.Bact. 66, 171 (1953).

SUNDBERG, C.: Das Glykogen in menschlichen Embryonen von 15, 17 und 40 mm. Z.Anat.Entw.Gesch. 73, 168 (1924).

SUZUKI, S., N. TAKAHASHI und F. EGAMI: Enzymic transsulfation from a phenol to carbohydrates. Biochim. Biophys. Acta 24, 444 (1957).

TÄHKÄ, H.: On the weight and strcture of the adrenal glands and the factors affecting them, in children of 0 - 2 years. Acta paediat. (Stockh.) 40, Suppl. 81, 1 (1951).

TONUTTI, E.: Die Umbauvorgänge in den Transformationsfeldern der Nebennierenrinde als Grundlage der Beurteilung der Nebennierenrinden-Arbeit. Z.mikr.-anat.Forsch. 52, 32 (1942).

TONUTTI, E.: Über die strukturelle Funktionsanpassung der Nebennierenrinde. Endokrinol. 28, 1 (1951).

TONUTTI, E.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierenrinde. Verh.dtsch.path.Ges. 36, 123 (1953).

UOTILA, U.U.: The early embryological development of the fetal and permanent adrenal cortex in man. Anat. Rec. 76, 183 (1940).

VACCAREZZA, A.J.: Histophysiology of the adrenal cortex (in Spanisch). Medicina (B.Aires) 5, 425; 6, 46 (1945).

VACEK, Z.: Beta-Glucuronidase, alkaline phosphatase and nonspecific esterase in the adrenal gland of human embryos. Acta Histochem. 10, 5/8, 248 (1960).

VELICAN, C.: La zone transitoire de la corticosurrenale humaine. Arch.Anat. micr.Morph.exp. 37, 73 (1948).

VELICAN, C.: Les organes endocrines "neuro-épithéliaux". Ann.d'Endocrin. 9, 514 (1948).

VERNE, J.: Ein neuer Aspekt der Histologie durch die Lokalisation der Enzyme. Cytochemische Studie über alkalische Phosphatasen und Esterasen. Aerztl.Forsch. 10, 157 (1956).

VERNE, J. und S. HEBERT: L'activité phosphatasique alcaline dans le cortex surrénal due nourrisson. Ann.Endocrin. 19, 505 (1958).

VILLEE, D.B., L.L. ENGEL und C.A. VILLEE: Steroid hydroxylation in human and fetal adrenals. Endocrinology 65, 465 (1959).

WACHSTEIN, M. und E. MEISEL: Histochemistry of substrate specific phosphatases at a physiological pH. J.Histochem.Cytochem. 4, 424 (1956).

WAIDL, E. und K. SEMM: Der Beginn der hypothalamischen Neurosekretion in der Fetalzeit. Arch.Gynäk. 192, 269 (1960).

WARING, H.: The development of the adrenal gland of the mouse. Quart.J. Microsc.Sci. 78, 329 (1935).

WEIGERT, C.: Hemicephalie und Aplasie der Nebennieren. Virchows Arch. path.Anat. 100, 176 (1885).

WILLIAMS, R.G.: Studies of autoplastic and homoplastic grafts in rabbits. Amer.J.Anat. 93, 1 (1953).

ZAWISTOWSKI, S.: Topochemistry of alkaline phosphatase and nonspecific esterases in the adrenal glands of rat embryos. Csl.Morfol. 8/2, 134 (1960).

ZEISEL, H. und M. PRESSLER: Die Corticoide und neutralen C-17-ketosteroide im Harn des Kindes. 1. Die Steroidausscheidung im Säuglingsalter. Z.Kinderheilk. 72, 675 (1953).

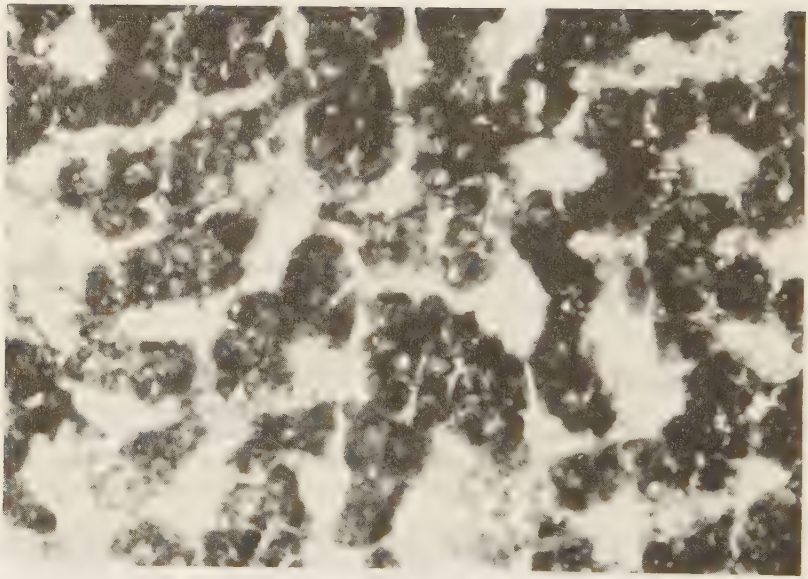

Abb. 1: 3-β-ol-Steroid-Dehydrogenase.
Nebennierenrinde, 16. Woche. (100fach).

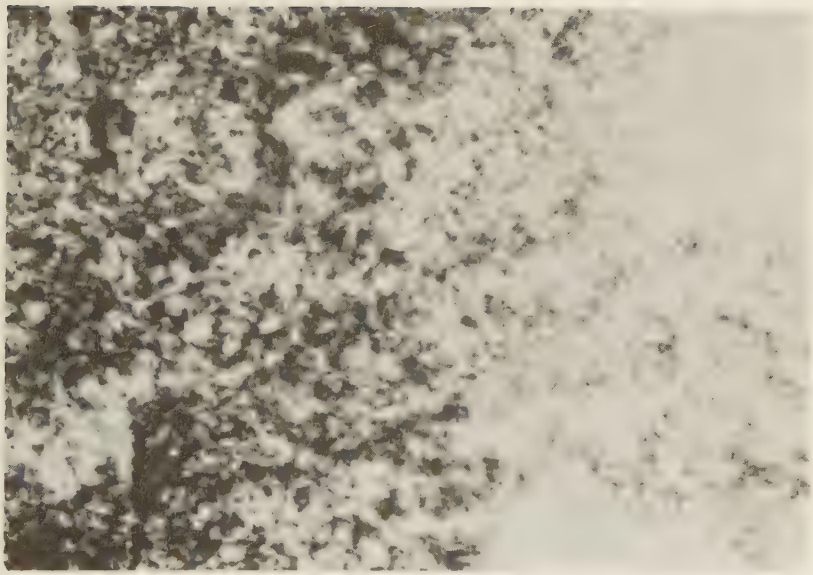

Abb. 2: β-Galaktosidase
Nebennierenrinde, Übergang von Außen- zu Innenzone, 10. Woche (100fach).

Abb. 3: Ali-Esterase
Nebennierenrinde, Außen- und Innenzone,
31. Woche. (64fach).

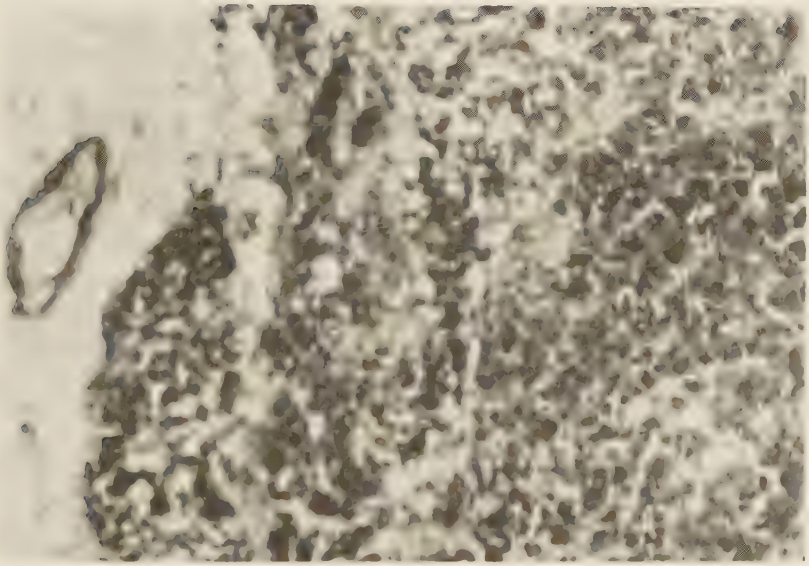

Abb. 4: β-Glucuronidase
Nebennierenrinde, Aktivität in der Wand eines Gefäßes, 40. Woche. (100fach).

Lebenslauf

Am 12.4.1943 wurde ich, Ulrich Wörz, als Sohn des Lehrers Erwin Wörz und seiner Ehefrau Anneliese Wörz, geb. Knauer in Göppingen geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Böttingen Kr. Münsingen und in Dettingen Kr. Reutlingen trat ich 1953 in das Progymnasium Urach ein. Nach dem Abschluß der mittleren Reife besuchte ich das Gymnasium in Metzingen und legte dort im März 1962 die Reifeprüfung ab.

Für das Sommersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen für das Fach Medizin. Hier legte ich 1963 die naturwissenschaftliche und 1964 die ärztliche Vorprüfung ab. Die klinischen Semester studierte ich an der Freien Universität Berlin und an der Universität Tübingen. Im Wintersemester 1965/66 begann ich an der Universitäts-Frauenklinik Tübingen mit der Durchführung der experimentellen Untersuchungen für die vorliegende Arbeit. Am 14.2.1968 bestand ich das medizinische Staatsexamen.